

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Alena Fajstová

Interakce mezi střevní mikroflórou a mozkem
Interactions between gut microorganisms and brain

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce:
prof. RNDr. Jiří Pácha, DrSc.

Praha, 2015

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13.8.2015

Podpis

Poděkování:

Ráda bych poděkovala vedoucímu své práce prof. RNDr. Jiřímu Páchovi, DrSc. za jeho ochotu, cenné rady a připomínky a své rodině a přátelům za podporu.

Abstrakt

Střevní mikrobiota komunikuje s mozkem prostřednictvím několika vzájemně se doplňujících mechanismů, mezi něž patří mechanismy nervové, endokrinní a imunitní. Jak patogenní, tak komenzální bakterie produkují velké množství neuropřenašečů a jiných metabolitů, které působí na mozek. Zároveň přítomnost bakterií vyvolává odezvu imunitního systému, který působí na mozek prostřednictvím cytokinů a jiných mediátorů. V neposlední řadě dochází ke komunikaci prostřednictvím nervů a to hlavně bloudivého nervu. Mozek působí na střevo prostřednictvím sympatických a parasympatických eferentních nervů a prostřednictvím hormonů. Osídlení střev nepatogenními komenzálními bakteriemi je nutné pro správný vývoj mozku. Pokud k němu nedojde v určitém vymezeném období, dochází v dalším životě k psychiatrickým poruchám, jako jsou deprese nebo autismus. Mnoho patologických stavů je možno zvrátit nebo upravit podáváním probiotických bakterií. Cílem práce je podat stručný přehled o faktorech ovlivňujících osídlení střev, a jeho vlivu na vývoj mozku a úlohou probiotik v léčbě a prevenci střevních a psychiatrických onemocnění.

Klíčová slova: střevní mikrobiom, mozek, neuroendokrinní regulace, probiotika, neuropřenašeče

Abstract

Intestinal microbiota communicates with brain via various cooperating pathways including neuronal, endocrine and immune. Pathogenic and commensal bacteria produce great amounts of neurotransmitters and various other metabolites which can interact with brain. Presence of bacteria can also induce immune system response which can influence brain through cytokines and other mediators. Last but not least the communication can be mediated through nerves, especially the vagus nerve. The brain can influence the intestines through sympathetic and parasympathic efferent nerves and through hormones. Gut colonization by nonpathogenic commensal bacteria is crucial for proper brain development. If this doesn't happen in certain period psychiatric disorders such as depression or autism can occur later in life. Various pathological conditions might be ameliorated or fully reversed by administration of probiotic bacteria. Aim of this thesis is to briefly review factors influencing gut microbiota, its influence on the brain development and the role of probiotics in the therapy of intestinal and psychiatric diseases.

Keywords: gut microbiome, brain, neuroendocrine regulation, probiotic, neurotransmitter

Obsah

1. Úvod	1
2. Střevní mikrobiom.....	2
2.1. Nejběžnější bakterie v lidském trávicím traktu	2
Graf 1: 30 nejpočetnějších bakteriálních rodů v lidském mikrobiomu. Neklasifikované rody zařazené pod vyšší kategorii jsou označeny *. Převzato a upraveno podle Arumugam et al., 2011.	
2.2. Osídlení střev a pojem enterotyp	3
2.3. Vývoj osídlení střev u člověka	4
2.3.1. Geografický vliv, vliv věku	4
2.3.2. Vliv kojení, stravy a způsobu porodu	5
2.4. Nejběžnější bakterie v trávicím traktu myši a potkana, vývoj jejich zastoupení.....	6
2.4.1. Střevní mikroflóra myši	6
2.4.2. Střevní mikroflóra potkana.....	8
3. Vliv mikrobiomu na mozek	8
3.1. Bakteriemi produkováné látky	9
3.1.1. Neuromodulátory a neuropřenašeče	9
3.1.1.1. Kyselina γ -aminomáselná	9
3.1.1.2. Serotonin, tryptofan a kynurenin	10
3.1.1.3. Tryptamin	11
3.1.1.4. Agmatin	11
3.1.2. Další metabolity	12
3.1.2.1. Těkavé karboxylové kyseliny	12
3.1.3. Mediátory imunitního systému uvolňované v odpověď na mikroorganismy	12
3.2. Cesty přenosu signálů a mediátorů do mozku	15
3.2.1. Neurální dráhy senzorké.....	15
3.2.2. Endokrinní způsob přenosu.....	16
3.3. Vliv střevního mikrobiomu na vývoj mozku	17
3.4. Studie zabývající se podáváním probiotik a prebiotik a jejich účinkem na mozek	18
3.4.1. Probiotika	18
4. Vliv mozku na mikrobiotu.....	22
4.1. Hypotalamo-hypofyzární osa, hormony	22
4.1.1. Glukokortikoidy	23
4.1.2. Katecholaminy	23
5. Onemocnění související s interakcemi střevo-mozek	24

5.1.	Střevní záněty a funkční poruchy střev	24
5.2.	Psychiatrické poruchy, deprese, úzkost, poruchy autistického spektra	25
6.	Závěr	26
7.	Seznam zkratek	27
8.	Seznam použité literatury	28

1. Úvod

Téma interakcí mezi střevní mikroflórou a mozkem je rozsáhlým komplexním tématem zasahujícím do několika odvětví biologie. Komunikace mezi střevními bakteriemi a mozkem probíhá na mnoha úrovních, jak nervových, tak endokrinních či imunitních.

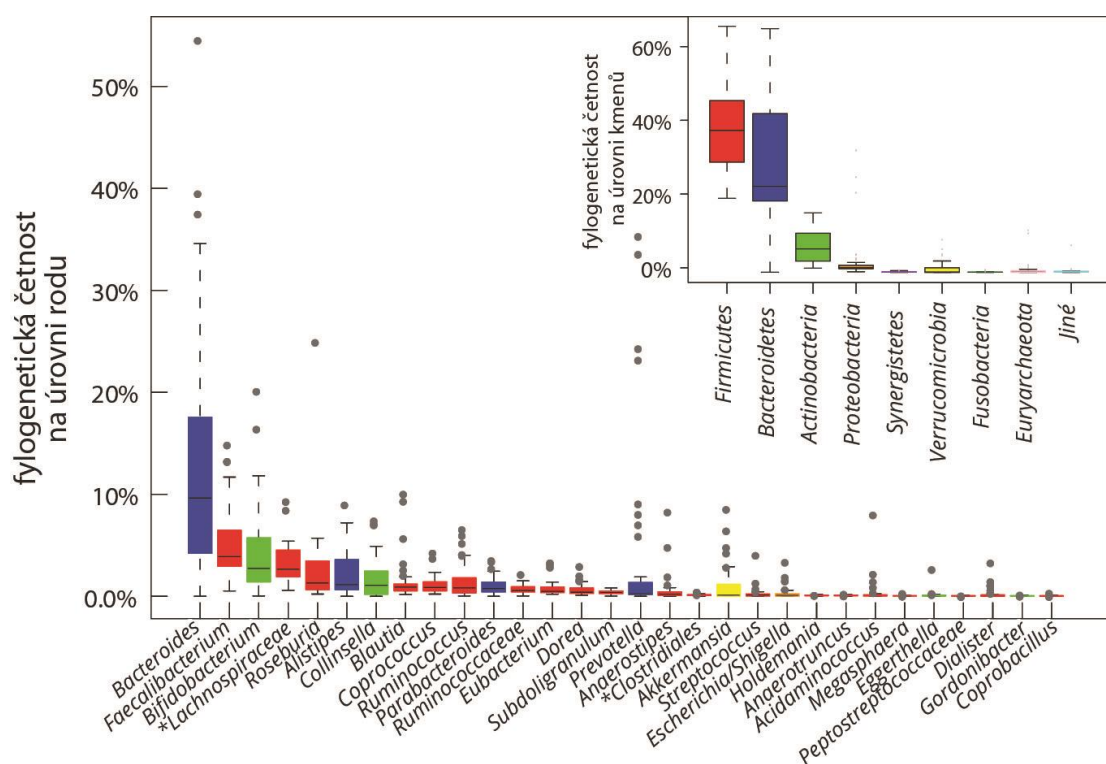
Zdravá střevní mikroflóra je pro člověka prospěšná v mnoha ohledech, pomáhá nám trávit potravu, stimulovat imunitní systém nebo nás chrání proti patogenním mikroorganismům. Jedna z funkcí střevních bakterií, která zatím není tak všeobecně známá, ale v poslední době se jí dostává ve výzkumu čím dál tím většího prostoru je schopnost střevních bakterií ovlivňovat mozek a jeho prostřednictvím i naše chování. Významným milníkem ve výzkumu interakcí střevní mikrobioty s mozkem byl projekt zahájený v roce 2008 s názvem Human microbiome project, jehož cílem bylo zmapovat lidský mikrobiom (Qin et al. 2010).

Cílem mojí práce je poskytnout přehled o faktorech ovlivňujících vývoj lidské střevní mikroflóry a v návaznosti na to vliv střevní mikroflóry na vývoj mozku. Část práce bude věnována bakteriálním produktům a cestám, kterými mohou působit na mozek. Dále bude pojednáno o výzkumech dokládajících schopnost pozitivního působení probiotických bakterií při některých patologických stavech. I když střevní mikroflórou se rozumí jak bakterie tak také houby a prvoci, budu se zabývat pouze bakteriemi, protože jsou to sama o sobě rozsáhlá samostatná témata.

2. Střevní mikrobiom

2.1. Nejběžnější bakterie v lidském trávicím traktu

Lidské střevo je osídleno 10^{13} a 10^{14} bakteriemi (Gill et al., 2006). Společný bakteriální genom střevních bakterií, tedy mikrobiom čítá 3,3 milionu genů, nejméně 150x více genů než náš lidský genom (Qin et al., 2010). Většina střevních bakterií je běžnými metodami nekultivovatelná, proto se pro analýzu střevního mikrobiomu používají metody pracující s prokaryotickou ribozomální 16S rRNA či 16S rDNA, které umožňují osekvenovat celý mikrobiom, jedná se o tzv. next-generation sequencing (sekvenování nové generace) (Eckburg et al., 2005; Arumugam et al., 2011; Wang et al., 2003). Jak bylo zjištěno pomocí molekulárně-genetických metod, nejběžnějšími bakteriálními kmeny ve střevě jsou *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Dále se v trávicím traktu vyskytují kmeny *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia* a *Actinobacteria*. Na úrovni rodu patří u lidí k početnějšími *Prevotella*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae*, *Roseburia* a *Clostridium*, jak je ilustrováno na grafech 1 a 2 (Arumugam et al., 2011; Nguyen et al., 2015).



Graf 1: 30 nejpočetnějších bakteriálních rodů v lidském mikrobiomu. Neklasifikované rody zařazené pod vyšší kategorii jsou označeny *. Převzato a upraveno podle Arumugam et al., 2011.

2.2. Osídlení střev a pojem enterotyp

V nedávné době se objevily práce, kde autoři na základě složení střevní mikrobioty definovali pojem enterotyp (Arumugam et al. 2011). Na základě analýzy bakteriálních genomů 22 Evropanů a jejich porovnání s dříve publikovanými daty určili tři enterotypy. Enterotyp 1 je charakterizován větším množstvím bakterií rodu *Bacteroides* než ostatní enterotypy, enterotyp 2 je charakterizován vyšším počtem rodu *Prevotella* a enterotyp 3 je charakterizován vyšším počtem rodu *Ruminococcus*. Různé enterotypy využívají různé cesty pro získání energie z fermentovatelných substrátů dostupných ve střevě a liší se mimo jiné i schopností syntetizovat vitamíny. Všechny metabolické dráhy pro jejich syntézu se sice nachází u všech enterotypů, enterotypy 1 a 2 ale byly schopné různé úrovně produkce vitaminů. Enterotyp 1 produkuje více biotinu (H), pantothenátu (B₅), askorbátu (C) a riboflavinu (B₂) a enterotyp 2 více thiaminu (B₁) a folátu (kyselina listová). Dle autorů nejsou enterotypy významně ovlivněny věkem, pohlavím, stravovacími návyky ani hodnotou indexu tělesné hmotnosti (BMI, z angl. body mass index). Není tedy úplně jasné, co způsobuje příslušnost ke konkrétnímu enterotypu. Problematikou enterotypů a jejich souvislostí se stravou se zabýval také Wu et al. (2011) v tomto případě ale byly identifikovány pouze 2 enterotypy. Enterotyp s vyšším výskytem bakterií rodu *Prevotella* a enterotyp *Bacteroides*. Do studie bylo zahrnuto 98 lidí, od kterých byly shromážděny dotazníky týkající se stravování a vzorky stolice a následně provedena analýza 16S rDNA. Poté byly deseti jedincům podávány dva typy stravy – jedné skupině strava bohatá na tuk a chudá na vlákninu druhé strava bohatá na vlákninu a chudá na tuk. Výsledky ukázaly, že rozdělení do enterotypů je spojeno s dlouhodobým způsobem výživy, typ *Bacteroides* je obvyklý spíše u osob s typickou západní stravou bohatou na živočišné tuky a proteiny a typ *Prevotella* u osob se stravou bohatou na sacharidy. Kmeny asociované s trávením tuků jsou *Bacteroidetes* a *Actinobacteria* a kmeny asociované s trávením vlákniny jsou *Firmicutes* a *Proteobacteria*. Enterotyp *Bacteroides* je asociován s živočišnými proteiny, širokou škálou aminokyselin a saturevanými tuky, což je strava typická pro západní svět. Enterotyp *Prevotella* je asociován se sacharidy, což ukazuje na spojení se stravou typickou spíše pro zemědělstvím se živící populace. Po krátkodobé 10-ti denní změně diety nebyla pozorována změna enterotypu, autoři tedy předpokládají, že enterotyp souvisí s dlouhodobými stravovacími návyky. Jak sami autoři těchto studií uvádějí, hodnocení enterotypů je poměrně složité a je třeba dalších

výzkumů. Potenciál je možné vidět v tom, že každý enterotyp může reagovat jinak na různé léky, proto pokud by byl znám enterotyp konkrétního člověka, lékaři by se na základě toho mohli rozhodnout pro vhodnější léky, které u toho konkrétního enterotypu budou lépe fungovat (Arumugam et al. 2011; Wu et al. 2011).

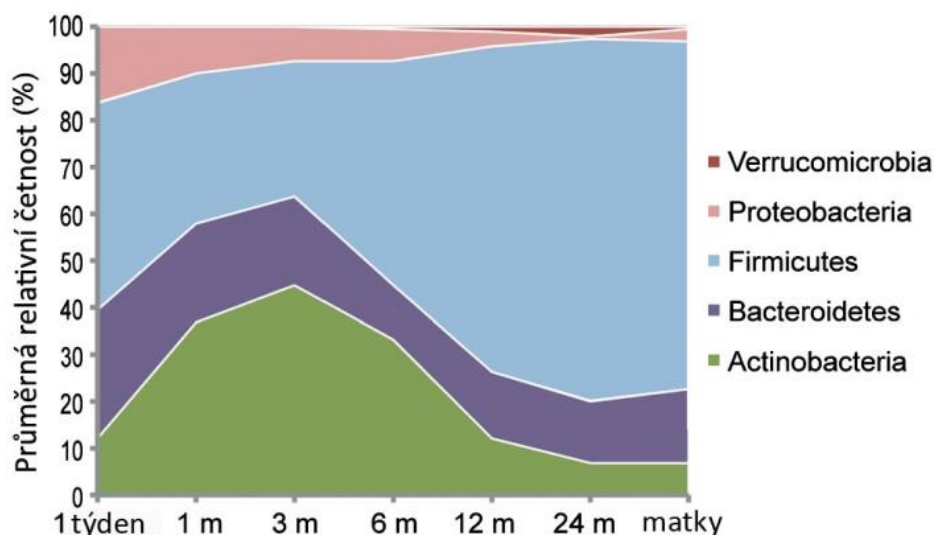
2.3. Vývoj osídlení střev u člověka

2.3.1. Geografický vliv, vliv věku

V roce 2012 byly publikovány výsledky rozsáhlé studie zabývající se geografickým vlivem a vlivem věku na střevní mikrobiotu (Yatsunenko et al. 2012). Pro tuto studii byly získány vzorky stolice 531 osob ze tří různých geografických oblastí: Malawi, Venezuely a Spojených států. Ze vzorků byla vyextrahována DNA a následně byla pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) amplifikována bakteriální 16S rRNA. Interpersonální variabilita byla významně větší mezi dětmi než mezi dospělými. Kompozice mikrobioty se výrazně lišila mezi různými geografickými oblastmi. Diverzita bakterií se zvyšovala s věkem, mikrobiota dospělých a dětí od tří let věku z USA byla méně různorodá než mikrobiota dalších dvou populací. V rámci studie byly identifikovány bakterie, jejichž množství se mění s věkem. Druh *Bifidobacterium longum* vykazoval výrazný úbytek s vyšším věkem. Většina bakterií u nejmenších dětí patřila k rodu *Bifidobacterium* a tyto bakterie dominovaly i v průběhu prvního roku života i když se jejich počet postupně snižoval. Složení mikroflóry se u dětí ustálí asi do tří let věku, potom už mají mikroflóru jako dospělí (Yatsunenko et al. 2012). Děti ve věku 1-6 let měly přes 90 % střevních bakterií náležících ke čtyřem nejhojnějším bakteriálním kmenům v lidském mikrobiomu a to: *Actionbacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* a *Proteobacteria*, podobně jako dospělí (Filippo et al. 2010).

V prvním roce života se mikrobiota dětí mění hodně, poté už změny nejsou tak výrazné (Endo et al. 2014). To dokládá studie novorozence sledovaného od narození do 1,5 roku věku. Těsně po narození náležela většina bakterií v trávicím traktu novorozence ke kmenu *Firmicutes*. V následujících dnech začal narůstat *Proteobacteria*. Tři měsíce po narození už zastoupení kmene *Firmicutes* kleslo na 25 %, výrazně stouplo zastoupení kmene *Actinobacteria* (přibližně 60 %). Mikroflóra novorozence během prvního roku života ještě značně kolísala. Po prvním roce života již dominovaly kmeny *Firmicutes* a *Bacteroidetes*, menší zastoupení měly kmeny *Actinobacteria* a *Proteobacteria* (Koenig et al. 2011). Podobný trend je možno pozorovat i v práci Jakobssona et al. (2014) jak je vidět na grafu 2 kde je

zachycen vývoj osídlení střev od narození do 2 let věku. Kojenci ve věku 4 měsíců mají nejvíce bakterií z kmene *Actionobacteria* (hl. *Bifidobacteriaceae*) a *Firmicutes* (více zastoupené jsou *Lachnospiraceae*, *Streptococcaceae*, *Erysipelotrichaceae*, *Veillonellaceae* a *Clostridiaceae*), výrazně méně *Proteobacteria* (hl. *Enterobacteriaceae*) a minimum bakterií je z kmene *Bacteroidetes* (Azad et al. 2013).



Graf 2: Vývoj zastoupení bakteriálních kmenů novorozenců a jejich matek. Vzorky od novorozenců byly odebrány ve věku jednoho týdne a 1, 3, 6 a 24 měsíců. Upraveno podle Jakobsson et al., 2014.

2.3.2. Vliv kojení, stravy a způsobu porodu

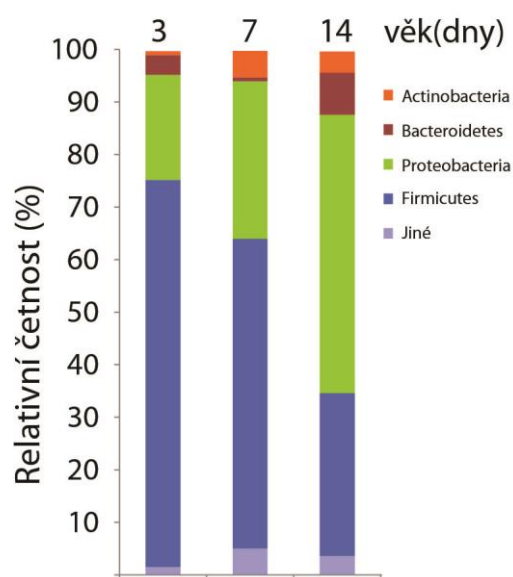
To, zda jsou děti kojeny a jakou dostávají stravu, může výrazně ovlivnit jejich mikrobiotu (Bezirtzoglou et al. 2011). Na osídlení střev má vliv také způsob porodu, střeva novorozenců narozených císařským řezem mají odlišnou mikrobiotu než střeva novorozenců narozených přirozeně, mají například menší diverzitu bakterií (Jakobsson et al. 2014). Novorozenci narození císařským řezem mají také méně bakterií rodu *Escherichia-Shigella* a *Bacteroides* a celkově v jejich mikrobiotě dominují druhy bakterií přítomné na kůži matky, kdežto u dětí narozených vaginálním porodem dominují bakterie vaginálního osídlení matky (Azad et al. 2013). Podle práce Filippo et al. (2010), při které byla srovnávána střevní mikrobiota dětí ve věku 1-6 let z vesnické oblasti v Africe a dětí z prostředí italského města má na mikrobiotu vliv převážně strava. Děti v Africe mají stravu bohatou na škrob, vlákninu a rostlinné polysacharidy, naproti tomu příjem tuků a živočišných proteinů je nízký. Ve stravě jsou hlavně obilniny, luštěniny a zelenina. To způsobuje, že tyto děti mají ve střevech hodně

Bacteroides a méně *Firmicutes*, unikátní hojnost bakterií rodu *Prevotella* a *Xylanibacter*, známé pro obsah genů pro hydrolýzu celulózy a xylanu. Africké děti mají také méně *Enterobacteriaceae* (*Shigella* a *Escherichia*), podle autorů by to mohlo být právě tím, že Africké děti mají stravu hodně bohatou na polysacharidy a jejich střevní mikrobiota se proto vyvíjela v závislosti na tom, aby mohla být maximalizována energie z vlákniny a zároveň aby byly chráněny před zánětlivými, neinfekčními chorobami střev. Africké děti také měly výrazně vyšší hladinu těkavých karboxylových kyselin (SCFA, z angl. short chain fatty acid), které jsou důležitým zdrojem energie pro střevní enterocyty. Autoři vyvozují, že strava bohatá na rostlinné polysacharidy a chudá na cukry a tuky může selektovat bakterie, které produkují SCFA, protože rostlinné polysacharidy jsou tráveny v tlustém střevě za pomoci bakterií a při tom vznikají SCFA.

2.4. Nejběžnější bakterie v trávicím traktu myši a potkana, vývoj jejich zastoupení

2.4.1. Střevní mikroflóra myši

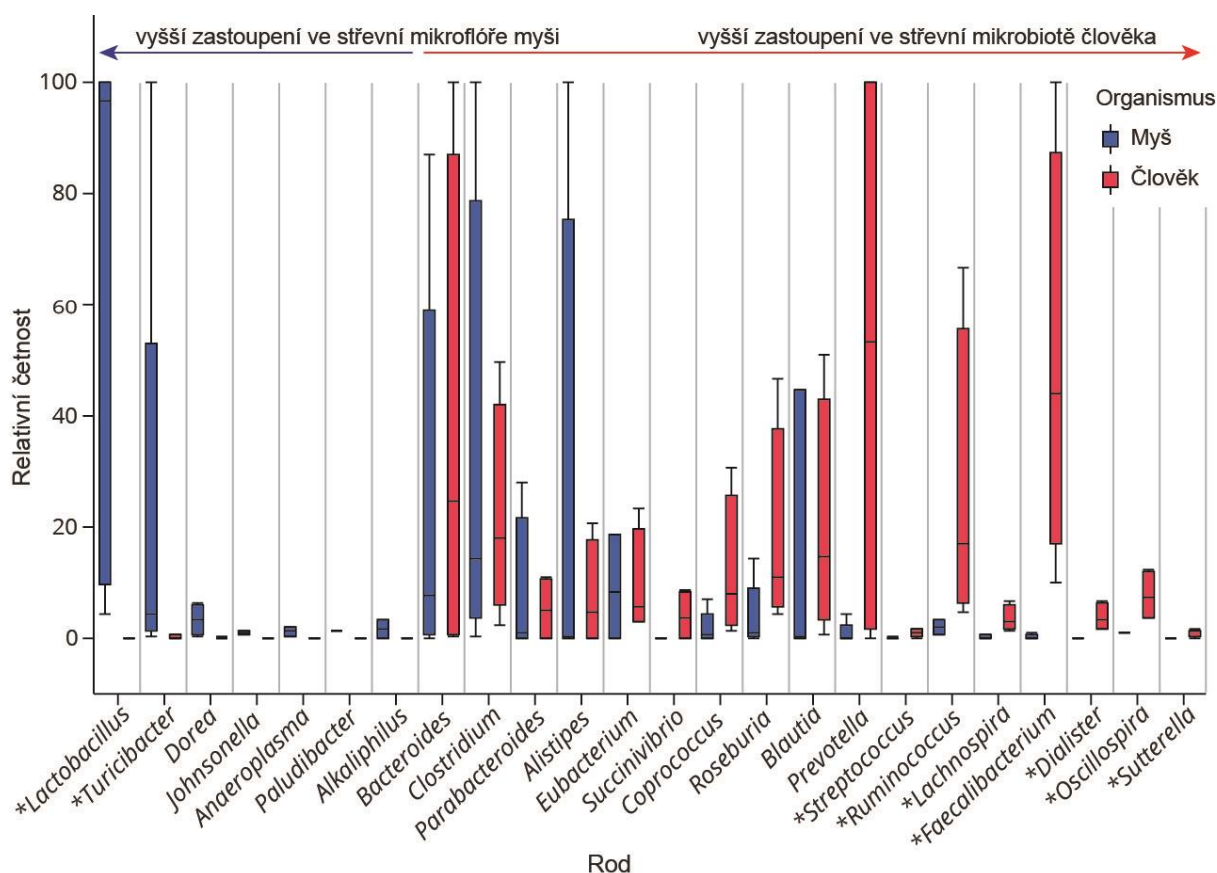
Střevní mikroflóra člověka a laboratorních hlodavců má podobné zastoupení na úrovni kmenů, kdy přes 90 % identifikovaných bakterií patří ke kmenům *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Mikroflóry se ale liší na úrovni rodů, druhů atd. Většina prací udává u myši zastoupení 60–80 % bakterií z kmene *Firmicutes* a 20–40 % bakterií z kmene *Bacteroidetes* u myši starých 4–6 týdnů (Sekirov et al. 2008; Antonopoulos et al. 2009), 7–9 týdnů i 1 rok (Ley et al. 2005; Bailey et al. 2010). Tento poměr je podobný i u dalších savců, při rozsáhlé analýze mnoha druhů byl zjištěn podíl 65,7 % *Firmicutes* a 16,3 % *Bacteroidetes* (Ley et al. 2008). Měření provedené 3, 7 a 14 dnů po narození ukázalo, že mikroflóra myši tři dny po narození byla přibližně ze 75 % složena z bakterií kmene *Firmicutes*, 20 % kmene *Proteobacteria*, 4 % *Bacteroidetes* a 1 % *Actinobacteria*. V následujících dnech se poměr měnil směrem k dominanci *Proteobacteria* jak ukazuje graf 3. Na úrovni čeledi je v rámci kmene *Firmicutes*



Graf 3: Hlavní bakteriální kmeny střevní mikroflóry myši 3, 7 a 14 dnů od narození

nejpočetnější čeleď *Lactobacillaceae*, která třetí den po narození dosahuje četnosti více než 60 %, čtrnáctý den po narození už jen přibližně 20 %. V rámci kmene *Proteobacteria* je nejpočetnější čeleď *Enterobacteriaceae*, která třetí den po narození dosahuje četnosti přibližně 10 % a do čtrnáctého dne stoupne na 35 % (Del Chierico et al. 2014). Přibližně v období prvního až druhého týdne od narození je střevní mikroflóra zdravých myší dominována kmenem *Proteobacteria* (77 %, hlavně čeleď *Enterobacteriaceae*), tento rod pak do třetího týdne poklesne téměř na nulu. Naopak k výraznému zvýšení dojde v zastoupení kmenů *Firmicutes* a *Bacteroidetes* (Mirpuri et al. 2014). Opačný poměr dvou nejzastoupenějších kmenů zdokumentoval (Schloss et al. 2012). Asi 70 % bakterií patřilo do kmene *Bacteroidetes* a asi 29 % k *Firmicutes*. Další detekované kmeny neměly vyšší zastoupení než 0,1%, patřily mezi ně *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Tenericutes*, TM7 a *Verrucomicrobia*.

Na úrovni rodu je v myším střevě hojně zastoupen *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Alistipes* a *Turicibacter*. Zajímavé je porovnání se zastoupením u lidí, které nabízí graf 4 (Nguyen et al. 2015).



Graf 4: Meta-analýza fekální mikrobioty myší a lidí založená na publikovaných 16S rDNA

sekvenčních datech. Porovnání střevních mikrobiot zdravých dospělých myší a lidí. Relativní četnosti rodů jsou seřazeny podle jejich zastoupení buď v lidském nebo myším mikrobiomu. Hvězdičkou jsou označeny rody, které se mezi člověkem a myší výrazně liší. Převzato z Nguyen et al., 2015

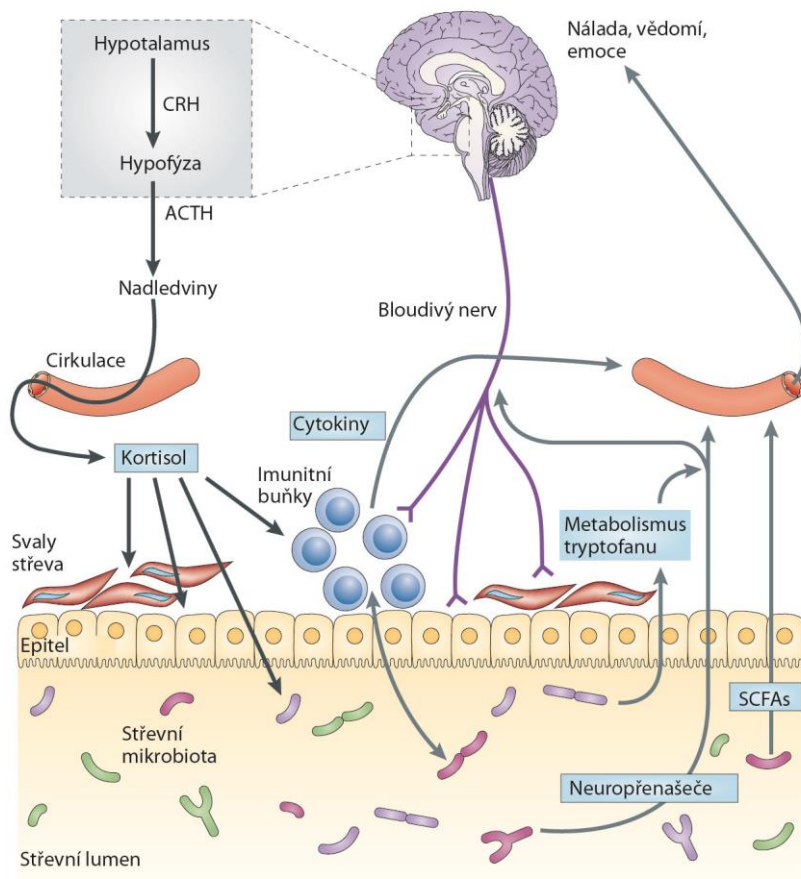
2.4.2. Střevní mikroflóra potkana

Potkan má střevní mikroflóru podobnější lidské než myš (Nguyen et al. 2015). V průběhu života je možné u potkanů sledovat trend ke zvyšování podílu bakterií kmene Firmicutes a snižování bakterií kmene Bacteroidetes jak dokládá následující výčet experimentů. Mláďata potkanů stará 21 dnů měly na úrovni kmenů zastoupení 51 % *Bacteroidetes*, 41 % *Firmicutes*, *Proteobacteria* pod 5 %. Na úrovni rodů patřily k nejpočetnějším rody *Bacteroides* (15 %), *Parabacteroides* (12,5 %) (Fan et al. 2014). Potkani sledovaní od věku 6-ti týdnů měli na začátku zastoupení kmene *Bacteroidetes* asi 45 %, 30 % *Firmicutes*, 5 % *Proteobacteria* a 5 % *Verrucomicrobia*. Postupem času (konec sledování po 56ti dnech) došlo ke zvýšení podílu *Firmicutes* přibližně na 40 % a snížení *Bacteroidetes* na 30 % (Chen et al. 2014). Potkani staří přibližně 10 týdnů měli zastoupení kmene Firmicutes 77 %, 14 % *Bacteroidetes*, 5 % *Proteobacteria* a 1,5 % *Actinobacteria* (Davey et al. 2013). V trávicím traktu potkanů starých 24 týdnů bylo identifikováno přibližně 80 % bakterií náležících ke kmeni *Firmicutes*, 10 % *Proteobacteria* a 5 % *Bacteroidetes*. Nejpočetněji zastoupeným rodem byl *Lactobacillus*, druhým nejpočetnějším *Clostridium* (Lecomte et al. 2015).

3. Vliv mikrobiomu na mozek

Pro výzkum vlivu mikrobiomu na mozek je výhodné použít bezmikrobní tzv. Germ-free (GF) nebo Specific pathogen free - myši bez patogenních mikroorganismů (SPF), jejichž střeva lze osídlit konkrétní zkoumanou bakterií nebo jejich kombinací. Pak je možné porovnat výsledky mezi GF a SPF myšmi. Vhodnou metodou také může být vzájemná výměna střevních mikrobiomů GF a SPF myší, na tom je možno pozorovat zda lze změny způsobné určitým osídlením střev ještě zvrátit.

Bakterie mohou komunikovat s CNS několika cestami. Jednou z nich je cesta nervová, zprostředkovaná hlavně bloudivým nervem. Další možností je produkce bakteriálních metabolitů, které následně ovlivňují vnitřní prostředí hostitele. Bakterie také ovlivňují hostitele zprostředkovaně, přes imunitní systém. Tyto cesty se vzájemně doplňují (Obrázek 1) (Collins et al. 2012).



Obrázek 1: Dráhy účastníci se obousměrné komunikace střevní mikrobioty a mozku. Střevní mikrobiota může modulovat osu střevo-mozek prostřednictvím rozmanitých přímých a nepřímých cest. Zahrnují endokrinní, imunitní a neurální dráhy. Mozek používá k ovlivnění kompozice mikrobioty stejné cesty. Převzato a upraveno z Cryan, 2012.

3.1. Bakteriemi produkováné látky

V této kapitole budou popsány některé z látek, které bakterie buď přímo produkují, nebo se účastní jejich syntézy. Popsané látky mají jak pozitivní, tak negativní účinky.

3.1.1. Neuromodulátory a neuropřenašeče

3.1.1.1. Kyselina γ -aminomáselná

Kyselina γ -aminomáselná (GABA, z angl. γ -Aminobutyric acid) je jedním z hlavních inhibičních neuropřenašečů (Bienenstock et al. 2010). Po aktivaci GABAergního neuronu dojde k vylití přenašeče do synaptické štěrbině a následně jeho navázání na GABA receptory na postsynaptické membráně. GABA receptory se dělí na rychle reagující ionotropní GABA_A a pomaleji reagující metabotropní GABA_B receptory (Hayes et al. 2014). Po navázání GABA na GABA_A receptory dojde k otevření Cl⁻ kanálů a vtoku Cl⁻ do buňky ve směru

elektrochemického gradientu. Poté dochází k hyperpolarizaci membrány a vzniku inhibičního postsynaptického potenciálu (IPSP) a je zastaven vtok Ca^{2+} iontů do buňky. GABA_B jsou s G proteiny spřažené receptory. Po navázání dojde prostřednictvím G proteinu k otevření K^+ kanálů, což vede k vytékání K^+ ven z buňky. To vede k hyperpolarizaci postsynaptické membrány, je zastaven vtok Ca^{2+} iontů do buňky a dojde k postsynaptické inhibici. Přesto, že ve vyvinutém mozku působí GABA inhibičně, při vývoji mozku působí excitačně. Tato změna je způsobena koncentrací Cl^- iontů, pokud je tato koncentrace vysoká GABA působí excitačně, když dojde k jejímu snížení, působí inhibičně (Li and Xu 2008).

Některé druhy rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* nacházející se v různých fermentovaných výrobcích či přímo ve střevě mohou dekarboxylací glutamátu vytvářet GABA (enzymem glutamát dekarboxylázou) (Higuchi et al. 1997; Barrett et al. 2012). Nejúčinnějším ze zkoumaných druhů, které byly izolovány z lidského střeva je *Lactobacillus brevis* a *Bifidobacterium dentium* (Barrett et al. 2012).

3.1.1.2. Serotonin, tryptofan a kynurenin

Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) působí jako neurotransmitter, je produkován v mozku a trávicím traktu kde reguluje například motilitu a sekreci (O'Mahony et al. 2015). Většina serotoninu v těle je syntetizována ve střevech. Bakterie ve střevech ovlivňují syntézu serotoninu, která probíhá v enterochromafinních buňkách. GF myši mají výrazně sníženou hladinu serotoninu a to hlavně v tlustém střevě, což potvrzuje účast střevních bakterií při syntéze serotoninu (Sjögren et al. 2012; Yano et al. 2015). Přesný mechanismus a role bakterií v něm není dosud znám. GF myši mají sníženou hladinu exprese *TPH1*, genu pro enzym tryptofan hydroxyláza, který se účastní syntézy serotoninu ve střevech (Yano et al. 2015). V jiné studii byla zjištěna u samců GF myší zvýšená hladina tryptofanu v plasmě a zvýšená koncentrace 5-HT v hipokampu v porovnání s kontrolami (Clarke et al. 2012). Je možné, že pokud se serotonin nemůže u GF myší tvořit ve střevech je v těle větší nadbytek jeho prekursoru tryptofanu, ze kterého se serotonin tvoří v mozku. Bakterie samy jsou také schopny syntetizovat z tryptofanu serotonin nebo jiné látky, touto cestou však vzniká jen malé množství serotoninu. Jednou z takových bakterií, která je schopna syntézy serotoninu *in vitro* je například *E.coli*, která je mimoto schopna syntetizovat i dopamin a noradrenalin (Shishov et al. 2009). Dalšími jsou některé rody *Lactobacillus* nebo *Streptococcus thermophilus* (Tsavkelova et al. 2006; Özogul et al. 2013).

S metabolismem serotoninu a tryptofanu souvisí další látka a to kynurenin. Kynurenin vzniká prostřednictvím kynureninové dráhy při rozkladu tryptofanu, kdy může vzniknout kyselina kynurenová, která má neuroprotektivní účinky a je antagonistou glutamátových a nikotinových receptorů nebo kyselina chinolinová, která je agonistou receptorů aktivovaných *N*-methyl-D-asparagovou kyselinou (NMDA) a působí neurotoxicky (Heyes et al. 1992). U myší, kterým byl způsoben střevní zánět, byly zjištěny zvýšené koncentrace kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan (Bercik et al. 2010). Změny v hladinách výše uvedených látek účastnících se metabolismu serotoninu byly prokázány u řady psychiatrických onemocnění postihujících mozek (Heyes et al. 1992; Savitz et al. 2015).

3.1.1.3. Tryptamin

Některé bakterie vyskytující se ve střevech jsou schopné syntetizovat neurotransmitter tryptamin. Cestou dekarboxylace tryptofanu to dokáže například *Clostridium sporogenes* a *Ruminococcus gnavus*. Tyto bakterie vytváří tryptamin pomocí enzymu tryptofan dekarboxylázy a tryptamin je tak další z látek souvisejících s metabolismem tryptofanu a serotoninu (Williams et al. 2014).

3.1.1.4. Agmatin

Agmatin vzniká z L-argininu pomocí enzymu arginin dekarboxyláza. Agmatin se tvoří ve tkáních savců, hlavním zdrojem je však agmatin z potravy a agmatin, který produkují střevní bakterie (Molderings et al. 2003). Agmatin tvoří i probiotické bakterie jako jsou *Lactobacillus reuteri* nebo *Lactobacillus acidophilus* (Haenisch et al. 2008). Bylo prokázáno, že agmatin tlumí abstinenční příznaky ethanolu a některých dalších návykových látek (Taksande et al. 2010). Další možné účinky agmatinu jsou například neuroprotektivní (Lee et al. 2009; Sezer et al. 2013), antidepresivní nebo anxiolytické (Zomkowski et al. 2002). Agmatin se váže na různé typy receptorů například α 2-adrenergní, imidazolinové, (Raasch et al. 1995) a působí jako antagonist glutamátových NMDA receptorů (Yang and Reis 1999). Agmatin způsobuje nebo usnadňuje uvolňování dalších neurotransmiterů a hormonů, například usnadňuje vyplavení katecholaminů z chromafinních buněk dřeně nadledvin (Li et al. 1994). Agmatin nevratně inaktivuje syntáza oxidu dusnatého (NOS, z angl. nitric oxid synthase), enzym, který katalyzuje syntézu oxidu dusnatého (Demady et al. 2001). Při degradaci agmatinu vzniká mimo jiné putrescin, který je v poslední době zkoumán pro možné antidepresivní, analgetické a další účinky (Genedani et al. 1984; Zomkowski et al. 2006).

3.1.2. Další metabolity

3.1.2.1. Těkavé karboxylové kyseliny

Těkavé karboxylové kyseliny (SCFA) jsou 2-6ti uhlíkové molekuly, které jsou produkovány střevními bakteriemi. Vznikají fermentací vlákniny (Canani et al. 2011). Změny v jejich zastoupení byly zaznamenány u řady onemocnění. U pacientů trpících IBS byly zaznamenány zvýšené hladiny kyseliny octové a propionové jako důsledek pozměněné střevní mikroflóry. Tito lidé měli ve střevech výrazně vyšší počty bakterií druhu *Veillonella* a *Lactobacillus*, které tyto kyseliny produkují. Vysoké hladiny těchto kyselin mohou být spojené s abdominálními symptomy, sníženou kvalitou života a negativními emocemi u nemocných s IBS (Tana et al. 2010). SCFA mohou působit na sympatický nervový systém prostřednictvím s G-proteinem spřažených receptorů 41 (GPR 41, G protein-coupled receptor 41) (Kimura et al. 2011).

Butyrát působí proti uvolňování prozánětlivých cytokinů a zvyšuje expresi proteinů těsných spojů ve střevním epitelu. Bylo zjištěno, že butyrát sodný má antidepresivní účinky. Butyrát sodný působí jako inhibitor histon deacetylázy. V patofyziologii deprese hraje úlohu remodelace chromatinu a deacetylace histonů, která může vyústit ve změny v genové expresi. Butyrát sodný způsobuje hyperacetylaci histonů a tím umožňuje přístup enzymů opravujících DNA (Schroeder et al. 2007; Yamawaki et al. 2011). Dále ovlivňuje pravděpodobně také metylaci DNAC (Wei et al. 2014). Kyselina propionová působí u potkanů změny v chování typické pro autismus (MacFabe et al. 2006, 2011; Thomas et al. 2012).

3.1.3. Mediátory imunitního systému uvolňované v odpověď na mikroorganismy

Při prvotním rozpoznávání bakterií a následné imunitní odpovědi zprostředkované T lymfocyty hrají důležitou roli dendritické buňky. Dendritické buňky či makrofágy interagují s mikroby pomocí pattern recognition receptors (PRR) pod něž se řadí i Toll-like receptory (TLR) v cytoplazmatické membráně a Nod-like receptory umístěné v jaderné membráně (McCusker and Kelley 2013). Na tom s jakým konkrétním TLR bakterie reagují, závisí i další vývoj imunitní odpovědi a volba Th1 x Th2 odpovědi (Hart et al. 2004). S TLR interagují jak patogenní tak komenzální bakterie a jejich prostřednictvím je udržována homeostáza střevního epitelu. V současné době není známo, jak přesně organismus rozeznává komenzální bakterie od patogenních (Rakoff-Nahoum et al. 2004). Komenzální bakterie

produkují s mikroby asociované molekulární vzorce (MAMPs, z angl. microbiota-associated molecular patterns), například lipopolysacharid (LPS – složka vnější membrány Gram-negativních bakterií). Patogenní bakterie produkují s patogeny asociované molekulární vzorce (PAMPs, z angl. pathogen-associated molecular patterns). Ty pak reagují s TLR, které v případě, že se jedná o PAMPs následně způsobí sekreci IgA protilátek a antimikrobiálních peptidů (Abreu 2010) a dojde k aktivaci nukleárního faktoru $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) a stimulaci exprese prozánětlivých cytokinů mezi které patří třeba interleukin(IL)-1, IL-6 nebo faktor nádorové nekrózy α (TNF- α) (Verstrepen et al. 2008).

Probiotické i patogenní bakterie jsou schopné ovlivnit činnost dendritických buněk a produkci cytokinů. Patogenní bakterie obecně způsobují zvyšování hladin prozánětlivých cytokinů, mezi které jsou řazeny například TNF- α , IL-1, IL-12, IL-18 nebo interferon γ (IFN- γ), probiotické bakterie naopak mohou zvyšovat hladiny protizánětlivých cytokinů, mezi něž patří IL-4, IL-10, IL-13, transformující růstový faktor β (TGF- β , z angl. transforming growth factor β) nebo IFN- α . Toto dělení cytokinů je však příliš zjednodušující, některé cytokiny mohou v závislosti na situaci působit jak prozánětlivě tak protizánětlivě. To, jakým způsobem působí, závisí na dalších faktorech, jako je množství cytokinu, cílová buňka na kterou působí nebo třeba aktivační signál (Cavaillon 2001).

Běžně dostupný probiotický preparát (obsahující čtyř druhy laktobacilů, tři druhy bifidobakterií a jeden druh streptokoka), který je používán v terapii nespecifických střevních zánětů (IBD, z angl. irritabe bowel disease) například vyvolal produkci IL-10 a zabraňoval produkci IL-12 v dendritických buňkách izolovaných z krve a střevní tkáně. Při detailnějším zkoumání jednotlivých bakteriálních rodů bylo zjištěno, že každý má trochu jiný účinek (Hart et al. 2004).

Cytokiny působící v mozku mohou být různého původu, mohou být produkovány přímo buňkami v CNS jako jsou astrocyty nebo endoteliální buňky nebo se mohou do mozku dostat z periferie (Banks 2005). Cytokiny z periferie mohou ovlivnit CNS přímo vstupem přes hematoencefalickou bariéru (pomocí receptorů-přenašečů), vstupem přes cirkumventrikulární orgány, mohou spustit uvolnění druhých posílů některými typy endoteliálních buněk či mikroglíí a v neposlední řadě mohou působit na CNS prostřednictvím periferních nervů (Osburg et al. 2002). Prozánětlivé cytokiny jako jsou IL-1, IL-6 nebo TNF- α jsou silné aktivátory HPA osy (Alesci et al. 2005). V reakci na podání LPS byly naměřeny

zvýšené hladiny TNF- α a IL-6 v paraventriculárních jádrech hypotalamu, zvýšení hladin těchto cytokinů vede ke stimulaci HPA osy a zvýšení hladin CRH a následně ACTH (Kakizaki et al. 2006). Sekreci CRH v hypotalamu stimuluje i IL-1 (Sapolsky et al. 1987). Zvýšené hladiny IL-1 a IL-6 v mozku byly naměřeny také u myši po injekčním podání endotoxinu (Meyer et al. 1997).

IL-1 může v mozku působit prostřednictvím vazby na některý z osmi IL-1 receptorů (IL-1R). IL-1 v mozku může působit neurodegenerativně. Zvýšení IL-1 v mozku způsobené chronickým stresem nebo zánětem má negativní vliv na hipokampus – snižuje neurogenezi, má negativní vliv na paměť a vede k úbytku na váze. Hladiny tohoto interleukinu jsou zvýšené u řady onemocnění jako je roztroušená skleróza, Parkinsonova nemoc, epilepsie, Alzheimerova nemoc nebo amyotrofická laterální skleróza (Menachem-Zidon et al. 2007).

Zvýšené hladiny IL-6 byly zaznamenány po působení stresu a u pacientů s depresí (Alesci et al. 2005). Experimentálně navozené zvýšení IL-6 v mozku myši způsobilo ataxii, třes, záchvaty a další neurologické symptomy, které byly způsobené neurodegenerací, astrocytózou (zvýšení počtu astrocytů v reakci na destrukci okolních neuronů) či produkcí proteinů akutní fáze (Campbell et al. 1993).

Pacienti se zánětlivými onemocněními střev jako je IBS nebo IBD trpí často i psychiatrickým onemocněním. Pacienti trpící psychiatrickými onemocněními jako jsou deprese nebo úzkosti mají často mírné chronické záněty střev. Záněty střev a psychické poruchy spolu tedy oboustranně souvisí. V důsledku toho jsou u těchto pacientů často identifikovány změny v hladinách cytokinů. Pacienti trpící IBS mají pozměněný poměr cytokinů IL10/IL12, mají nižší hladiny IL-10 a vyšší hladiny IL-12 než zdraví jedinci. Tento poměr je možné normalizovat podáváním probiotika *B.infantis*, *Lactobacillus salivarius* takový efekt neměl (O'Mahony et al. 2005). Myši, které byly vystavené podmínkám způsobujícím deprese, měly zvýšenou náchylnost ke střevním zánětům a byly u nich naměřeny zvýšené koncentrace cytokinů ve střevech (TNF- α , IL-1 β , IL-6) (Ghia et al. 2008). Potkani vystavení v mládí maternální separaci měli v dospělosti zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů TNF- α a IFN- γ a trend ke zvýšení IL-6 (O'Mahony et al. 2009). Stejně tak byly zjištěny zvýšené hladiny cirkulujících plazmatických cytokinů u myši vystavených sociálnímu stresu a to konkrétně IL-6 a MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), zvýšení bylo možné zabránit podáním antibiotik. PO vystavení sociálnímu stresu se zvýšily také hladiny TNF- α a IFN- γ . Zároveň se zvýšením hladiny cytokinů

došlo ke snížení celkového počtu některých bakteriálních rodů, např. zvýšení IL-6 provázelo snížení počtu rodu *Coprococcus*, *Pseudobutyrovibrio* a *Dorea* (Bailey et al. 2010).

Zvýšení hladiny prozánětlivých cytokinů lze alespoň částečně zvrátit pomocí určitých probiotických bakterií. Potkani, kteří dlouhodobě dostávali probiotické bakterie *Bifidobacterium infantis*, měli po vystavení stresu výrazně nižší hladiny cytokinů IFN- γ , TNF- α a IL-6 v porovnání s kontrolami (Desbonnet et al. 2008).

3.2. Cesty přenosu signálů a mediátorů do mozku

3.2.1. Neurální dráhy senzorické

Komunikace mezi střevem, bakteriemi a mozkem je zprostředkována mimo jiné bloudivým nervem, který inervuje proximální část trávicího traktu od jícnu po proximální část tlustého střeva. Distální část tlustého střeva a rektum je inervována sakrálními parasympatickými nervy. (Goehler et al. 2005). Bloudivý nerv je důležitý například při tlumení časně fáze zánětlivé odpovědi. Ve vagových gangliích a *nucleus tractus solitarii* u *Campylobacter jejuni* nakažených myší došlo k vyšší expresi c-Fos, který je používán jako marker neuronální aktivity (Goehler et al. 2005). Roli bloudivého nervu v komunikaci mozku se střevem a bakteriemi dokládají i další experimenty. Myši, kterým byla provedena vagotomie, měly při zánětu střev vyšší hladiny IL-1 β , IL-6 a TNF- α (Ghia et al. 2006). Naproti tomu u chronické infekce nebyl prokázán efekt vagotomie (Bercik et al. 2010). Oba předchozí výsledky potvrzuje další studie při, které byl myším způsoben chronický zánět. Bloudivý nerv tlumil produkci prozánětlivých cytokinů v časně fázi zánětu, u myší po vagotomii byl průběh zánětu těžší. Mechanismus ochrany organismu před zánětem je pravděpodobně zajištěn supresí uvolnění prozánětlivých cytokinů z makrofágů. U vagotomizovaných myší byly nalezeny zvýšené hladiny tkáňových cytokinů ve střevech: IL- α 1, TNF- α , IFN- γ a IL-18 (Ghia et al. 2007).

Další součástí periferního nervového systému je enterický nervový systém, někdy nazývaný jako „druhý mozek“. Ten řídí činnost trávicího traktu. Je to rozsáhlá síť neuronů, jeho hlavními složkami jsou myenterická pleteň a submukózní pleteň. Myenterické neurony řídí hlavně motilitu, submukózní neurony sekreci (Schemann and Neunlist 2004; Soret et al. 2010).

3.2.2. Endokrinní způsob přenosu

Neurální cesta však není jediným způsobem, jak může střevní mikrobiom ovlivnit mozek. Další možností je prostřednictvím látek cirkulujících krví a dalšími tělními tekutinami. Touto cestou mohou být látky jako cytokiny, metabolity a mediátory dopraveny přímo do mozku. Ve zdravém organismu je transport látek přes střevní epitel do krve striktně omezen. Při patologických stavech jako je chronický zánět je permeabilita střevního epitelu narušena a přes bariéru mohou projít i látky, které by normálně projít neměly. Zvýšené hladiny cytokinů jako jsou IFN- γ , IL-1b nebo TNF- α mohou narušovat střevní bariéru prostřednictvím působení na těsné spoje mezi epiteliálními buňkami (Wang et al. 2005; Al-Sadi et al. 2012). Dojde-li tedy například působením stresu nebo přítomností zánětu ve střevech ke zvýšení hladin cytokinů mohou cytokiny způsobit větší permeabilitu střev a díky tomu se do krve mohou dostat látky, které zde běžně být nemají. Ty pak mohou putovat k různým orgánům. Pokud se dostanou k mozku, musí překonat další bariéru a to bariéru hematoencefalickou. Hematoencefalická bariéra odděluje prostředí krevních kapilár od prostředí mozku a kontroluje tak průchod molekul a nutrientů. Neporušená hematoencefalická bariéra je klíčová pro vývoj mozku. Zajišťuje správné fungování neuronů. Hematoencefalická bariéra také udržuje homeostázu CNS (Braniste et al. 2014).

Jedním z faktorů, který ovlivňuje utváření hematoencefalické bariéry je podle nedávných výzkumů i střevní mikrobiom (Anuar et al. 2012; Braniste et al. 2014). GF myši mají zvýšenou permeabilitu hematoencefalické bariéry oproti SPF myším s normální střevní mikroflórou. Zvýšená permeabilita je udržována i v dospělosti a souvisí se sníženou expresí proteinů těsných spojů occludinem a claudinem-5, které jsou známy pro regulaci bariérových funkcí endoteliálních tkání. Expozice GF myší mikrobiotě SPF myší vede ke snížení permeability bariéry u GF myší a zvýšení exprese proteinů pro těsné spoje. Interakce střevní mikroflóry a hematoencefalické bariéry začíná v době březosti a pokračuje celý život (Braniste et al. 2014). Příliš vysoké hladiny cytokinů mohou způsobit poškození hematoencefalické bariéry a zvýšit její permeabilitu (Quagliarello et al. 1991; Yarlagadda et al. 2009). Látka, která by se za normálních nepatologických okolností neměla dostat z prostředí střev, se tedy při patologických stavech může dostat i do tak přísně chráněného orgánu jako je mozek což může v mozku způsobit nemalé škody.

Transportem zprostředkovaným receptory se do mozku může z krve dostat například IL-1 α , IL-6 nebo TNF- α . TNF- α se do mozku dostává pomocí dvou receptorů TNFR1 (tumor necrosis factor receptor 1, další názvy receptor p55/p56 nebo CD120a) a TNFR2 (tumor necrosis factor receptor 2, další názvy receptor p75/p80 nebo CD120b). Pro transport TNF- α je zapotřebí obou receptorů (Pan and Kastin 2002). Transport TNF- α přes hematoencefalickou bariéru byl prokázán u laboratorních hlodavců, ne však u člověka. Pokud se cytokin naváže na cirkulující rozpustný receptor, nemůže se dostat přes hematoencefalickou bariéru. (Banks 2005).

Určité oblasti v mozku však mají hematoencefalickou bariéru propustnou pro více látek, tyto oblasti se nazývají cirkumventrikulární orgány. Řadí se mezi ně například area postrema, subkomisurální orgán, eminentia mediana, subfornikální orgán, *organum vasculosum lamina terminalis* nebo neurohypofýza (Ganong 2000). Zde mohou například cytokiny procházet bariérou volnou difuzí (Yarlagadda et al. 2009). Takto se mohou do mozku dostat například cytokiny IL-6, IL-1 α , IL-1 β nebo TNF- α . Ty pak mohou působit nemoci podobné chování, což má v konečném důsledku vliv i na kognitivní funkce (Banks et al. 2003).

Přes hematoencefalickou bariéru prochází také některé SCFA. Průchod těchto molekul je zajišťován monokarboxylátovým přenašečem (Pierre and Pellerin 2005; Moschen et al. 2012). Další molekulou schopnou průchodu přes hematoencefalickou bariéru je také agmatin (Piletz et al. 2003).

3.3. Vliv střevního mikrobiomu na vývoj mozku

Střevní mikrobiom má vliv na vývoj mozku a chování což dokládají experimenty na GF myších. GF myši jsou v porovnání se SPF myši více pohybově aktivní a nejsou tolik úzkostlivé, jsou ochotné více prozkoumávat okolí (Bercik et al. 2011; Gareau et al. 2011; Heijtz et al. 2011). Pokud je mládě GF myši v období po narození kolonizováno normální střevní mikroflórou jeho chování odpovídá chování SPF myši. Změny v chování GF myši jsou připisovány změnám v genové expresi genů ovlivňujících signální dráhy druhých posílů (cAMP) a dlouhotrvající zesílení synaptického přenosu. Mikrobiální kolonizace aktivuje signální mechanismy, které ovlivňují nervové okruhy účastníci se v kontrole pohybu a úzkostného chování. Změny v expresi synaptických proteinů (synaptofysin a protein post-synaptické density-95, PSD-95) mohou vést k modulaci synaptického přenosu, který může mít vliv na motorickou kontrolu a úzkostné chování (Heijtz et al. 2011).

Střevní mikrobiota má rovněž vliv na hladiny mozkového neurotrofního faktoru (BDNF) v určitých oblastech mozku a normální nepatogenní osídlení střev tak přispívá ke správnému vývoji mozku. Vliv mikrobioty na vývoj mozku je zásadní v prvních obdobích života. Pokud během určitého období nedojde k normálnímu osídlení střev, může dojít k odlišnostem ve vývoji mozku. To se projevuje v pozdějším životě třeba zvýšenou odpovědí organismu na stres (Sudo et al. 2004).

GF myši mají nižší expresi BDNF mRNA v amygdale, hipokampu a cingulárním kortexu (Heijtz et al. 2011). Snížení hladin BDNF potvrdil i Sudo et al. (2004), v protikladu ale stojí výsledky publikované v práci Neufeld et al. (2011), ti naměřili vyšší expresi BDNF mRNA v *gyrus dentatus* v hipokampu. Nutno ovšem podotknout, že při pokusu nebyly ideální podmínky, myši měly jen krátkou dobu na aklimatizaci (48 hod). Snížení exprese BDNF hipokampu způsobila i bakteriální infekce *Clostridium rodentum* v kombinaci se stresovými podmínkami, snížení BDNF bylo doprovázeno i snížením c-Fos. Infekce způsobila u myši problémy s pamětí což je dáváno do souvislosti právě se změnami v expresi BDNF a c-Fos (Gareau et al. 2011). C-Fos je mimo jiné důležitý i pro vývoj mozku, c-Fos deficitní myši mají menší mozek (Velazquez et al. 2015). Podávání antimikrobiotik u myši způsobilo zvýšení hladin BDNF v hipokampu a snížení v amygdale (Bercik et al. 2011a). Změny v hladinách BDNF je možné alespoň částečně normalizovat probiotiky (Bercik et al. 2010; Gareau et al. 2011).

Změny v chování související s osídlením střev lze zvrátit kolonizací střev odlišným mikrobiomem. Za použití dvou kmenů myši s odlišným profilem chování (BALB/c – úzkostlivé myši a NIH Swiss – normální). GF BALB/c myším a NIH Swiss myším byla dána mikroflóra SPF BALB/c a NIH Swiss myši. GF NIH Swiss myši kolonizované mikrobiotou BALB/c myši měly méně průzkumné chování než ty kolonizované mikrobiotou NIH Swiss myši. GF BALB/c myši kolonizované NIH mikrobiotou měly více průzkumné chování než ty s BALB/c mikrobiotou. Z tohoto experimentu je vidět, že změnou střevní mikrobioty lze změnit chování (Bercik et al. 2011a).

3.4. Studie zabývající se podáváním probiotik a prebiotik a jejich účinkem na mozek

3.4.1. Probiotika

Probiotika jsou definována jako živé organismy, které pokud jsou konzumovány v přiměřeném množství, mají na organismus pozitivní účinky (Dinan and Quigley 2011).

Výsledky výzkumů na zvířecích modelech i lidech z poslední doby ukazují, že probiotika mohou mít příznivý vliv na mnoho psychiatrických onemocnění jako je deprese, úzkost, autismus a další, které jsou často spojeny s funkčními poruchami střev (Bravo et al. 2011).

Pro výzkum vlivu probiotik na mozek se používají speciální kmeny myši. Jedním z těchto kmenů je BALB/c, tyto myši vykazují více úzkostné chování. Porovnávají se například s kmenem NIH Swiss. Myši jsou většinou Germ-free (GF, bez mikrobů) nebo Specific pathogen free – myši bez patogenních mikroorganismů (SPF). Střeva GF myši tak mohou být osídlena konkrétními bakteriálními druhy.

Jedním z často zkoumaných a používaných rodů probiotických bakterií je *Bifidobacterium* (Riedel et al. 2006; Desbonnet et al. 2008, 2010; Savignac et al. 2014), jehož podávání má pozitivní vliv na úzkost a depresi a stresem způsobené psychické problémy. Tyto účinky byly pozorovány například u *Bifidobacterium longum* nebo *Bifidobacterium breve*, jejichž efekt byl silnější než efekt antidepresiv (Escitalopram), která navíc způsobila přibývání na váze (Savignac et al. 2014). Podobné antidepresivní účinky byly pozorovány i u *Bifidobacterium infantis* (Desbonnet et al. 2008, 2010). Antidepresivní účinky *Bifidobacterium infantis* byly pozorovány u potkanů, kterým byla tato probiotika podávána po dobu 14ti dnů. Následně u nich byla zjištěna zvýšená koncentrace plazmatického tryptofanu a kyseliny kynurenové. Zvýšená odpověď na stres byla upravena podáním *Bifidobacterium infantis*. (Desbonnet et al. 2008).

Probiotika mají také příznivý vliv na kognitivní procesy a paměť což dokládají výsledky probiotiky krmených myši v testu založeném na rozpoznávání objektů i v Barnesově bludišti. Myši, kterým bylo podáváno *Bifidobacterium longum* dopadly v testech nejlépe, zaostávaly za nimi myši, kterým bylo podáváno *Bifidobacterium breve* a nejhůře při vyhodnocení dopadly myši, které dostávaly pouze vehikulum (Savignac et al. 2015).

Bifidobacterium longum má také příznivé účinky v případě chronického zánětu. Experimentálně navozený chronický zánět zapříčiněný parazitem *Trichuris muris* způsobil úzkostné chování, spojené se snížením exprese hipokampální BDNF mRNA, zvýšení koncentrací cirkulujících cytokinů TNF- α a IFN- γ stejně jako kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan. Podávání *Bifidobacterium longum* normalizovalo chování a hladiny BDNF mRNA, ale neovlivnilo hladiny cytokinů a kynureninu (Bercik et al. 2010). Účinky probiotik se liší druh od druhu. Například při výzkumu vlivu probiotik na průběh

lipopolysacharidy (LPS) navozeného zánětu (LPS – bakteriální endotoxin způsobující zánětlivou odpověď) byl pozorován pozitivní efekt jen u šesti z osmi zkoumaných druhů bifidobakterií. Při podrobnějším zkoumání mechanismu bylo zjištěno, že bifidobakterie blokuje LPS navozenou aktivaci nukleárního faktoru NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), transkripčního faktoru, který reguluje geny pro prozánětlivé cytokiny. Pokud je NF- κ B aktivován jinou látkou, bifidobakterie na něj nemají žádný vliv (Riedel et al. 2006). Translokaci NF- κ B do jádra blokuje i *Lactobacillus rhamnosus*, který tím zabrání sekreci IL-8 ze střevních epitelálních buněk (Ma et al. 2004).

Mechanismy působení probiotik nejsou většinou přesně známy, ale zjistilo se, že například při podávání *B. longum* se snižuje excitabilita enterických AH neuronů nacházejících se ve stěně střeva (Bercik et al. 2011b; Gareau et al. 2011; Heijtz et al. 2011). Čím přesně je snížení excitability v enterických neuronech způsobeno není zatím dostatečně prozkoumáno, ale tomuto tématu se již věnovalo několik výzkumných týmů. Jedním z možných mechanismů působení je snížení excitability enterických AH neuronů způsobené otevřením draselných kanálů a zavřením hyperpolarizací aktivovaných kationtových kanálů. Tento mechanismus byl objeven u *Bifidobacterium longum* NCC3001. *B. longum* působí na enterické senzorické neurony, které mohou působit cestou aferentních vláken bloudivého nervu na chování organismu (Khoshdel et al. 2013). V jiném experimentu byl použit *Lactobacillus reuteri* a v tomto případě bylo naopak zdokumentováno, že *Lactobacillus reuteri* zvýšil excitabilitu senzorických AH neuronů pomocí změn ve vápníkově závislých draselných kanálech (Kunze et al. 2009). Jako AH neurony jsou nazývány myenterické neurony – after-hyperpolarising, jedná se o senzorické neurony tenkého střeva s velkým buněčným tělem a dlouhými výběžky. Poprvé byly charakterizovány u morčat, později byly potvrzeny i ve střevech jiných savců (myši) (Hirst et al. 1974; Mao et al. 2006). Proč jeden druh bakterií excitabilitu AH neuronů zvyšuje a druhý snižuje, není dosud známo.

Z uvedeného přehledu je vidět, že podávání *Bifidobacterium longum* a další bifidobakterie mají prospěšné účinky na mozek i jeho interakci se střevy. Zajímavé je, že rod *Bifidobacterium* a konkrétně i druh *Bifidobacterium longum* se velmi hojně vyskytuje u malých dětí a s věkem jeho podíl ve střevním mikrobiomu klesá (Yatsunencko et al. 2012).

Dalším z často zkoumaných kmenů je *Lactobacillus*. *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) při dlouhodobém podávání působí změny v expresi mRNA pro receptory GABA. Konkrétně

působí zvýšení exprese mRNA pro podjednotku receptoru GABA_{B1b} v kortikálních oblastech a snížení exprese pro tuto podjednotku v hipokampu, amygdale a *locus coeruleus*. V expresi mRNA pro GABA_{Aα2} podjednotku dochází při podávání *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) ke snížení v prefrontálním kortexu a amygdale a zvýšení v hipokampu. *L. rhamnosus* snížil stresem vyvolané zvýšení kortikosteronu a úzkostné a s depresí spojené chování. Neurochemické a behaviorální efekty nebyly nalezeny u myší, kterým byla provedena vagotomie, což ukazuje na to, že bloudivý nerv je významný modulátor komunikační dráhy mezi bakteriemi ve střevech a mozkem. Vagotomie zabraňovala anxiolytickým účinkům *L. rhamnosus* (Bravo et al. 2011). Zapojení bloudivého nervu v komunikaci střev s CNS bylo zdokumentováno i v dalším experimentu, kdy u myší po vagotomii nedošlo k utlumení úzkostného chování po podání *B. longum* (Bercik et al. 2011b). Proti stresem vyvolaným změnám (zvýšení bakteriální translokace do mesenterických lymfatických uzlin změnám v sekreci iontů) působí u potkanů *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus helveticus* (Zareie et al. 2006).

Studií popisujících účinky probiotik u lidí není takové množství, jako je tomu u studií na hlodavcích. Jde převážně o studie hodnotící vliv probiotik na psychiku a jejich účinek u pacientů s depresemi a úzkostí. Použitými metodami jsou vyhodnocování pomocí dotazníků, vzorků stolice či moči, někdy zobrazení mozku pomocí magnetické rezonance. Jednou z prvních studií provedených u lidí byl výzkum, při kterém byl zdravým ženám dvakrát denně po čtyři týdny podáván kvašený mléčný výrobek. Pomocí magnetické rezonance pak byly vyhodnoceny změny v mozku a ukázalo se, že konzumace kvašeného mléčného výrobku ovlivnila aktivitu v oblastech mozku odpovídajících za kontrolu a zpracování emocí a pocitů (Tillisch et al. 2013). Pozitivní účinky byly například zjištěny při dlouhodobém podávání *Lactobacillus helveticus* R0052 a *Bifidobacterium longum* R0175 (po dobu 30ti dnů). U pacientů došlo ke snížení hladiny kortizolu v moči a snížily se příznaky úzkostí a deprese, i když ty byly vyhodnoceny pouze pomocí dotazníků. Stejná probiotika podávaná potkanům snížila výskyt úzkostného chování (Messaoudi et al. 2010). Ne všechny studie, ale potvrzují příznivý účinek probiotik. Design studie McNulty et al. (2011) byl podobný, také byl zkoumán vliv probiotik u lidí i hlodavců. V tomto případě byl použit běžně dostupný probiotický preparát, který obsahoval pět bakteriálních druhů (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, dva druhy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis* subsp.

cremoris a *Streptococcus thermophilus*). U lidí nebyly pozorovány ve vzorcích stolice žádné významné změny v podílu bakteriálních druhů, ani změny v proporčním zastoupení genů mikrobů kódujících známé enzymy. U myší byly pozorovány minimální změny ve složení mikrobioty, byly zjištěny změny v expresi mikrobiy kódovaných enzymů účastnících se různých metabolických drah. U pacientů trpících chronickým únavovým syndromem byl pozorován pozitivní účinek probiotik (*Lactobacillus casei*), snížily se u nich i projevy úzkosti (Rao et al. 2009). Probiotický preparát obsahující *Lactobacillus acidophilus* Rosell-52 a *Bifidobacterium longum* Rosell-175 podávaný lidem se symptomy deprese zlepšil některé stresem navozené symptomy v gastrointestinálním traktu, a to abdominální bolesti, nevolnost a zvracení. Nepomohlo to ale u dalších symptomů (sucho v ústech, ztráta chuti k jídlu, bolesti žaludku) a problémy se spánkem (Diop et al. 2008).

4. Vliv mozku na mikrobiotu

Vliv mozku na střevní mikrobiom může být buď přímý, prostřednictvím eferentních nervových vláken parasimpatiku a sympatiku a jimi uvolňovaných neuropřenašečů nebo nepřímý prostřednictvím hypotalamo-hypofyzární osy (HPA, z angl. hypothalamic-pituitary-adrenal axis), stimulací sekrece různých látek a cytokinů. Mozek může na střevní mikrobiom působit zprostředkovaně přes různé látky, které uvolňuje nebo řídí jejich uvolňování. Jednou z takových látek je neuropeptid Y (NPY). Přímý i nepřímý vliv se projevuje například změnami v propustnosti střev, regulací motility a sekrece (Rhee et al. 2009). Pro správnou funkci střev je důležitá homeostáza, pro jejíž udržování je důležitý limbický systém a hypotalamus, který se zároveň účastní řízení emočních odpovědí. CNS komunikuje se střevy prostřednictvím autonomního (ANS) a enterického nervového systému (ENS) (Jones et al. 2006).

4.1. Hypotalamo-hypofyzární osa, hormony

HPA osa je neuroendokrinní systém zodpovědný za stresovou odpověď (Collins et al. 2012). Aktivace HPA osy vede k uvolnění kortizolu, což je u lidí jeden z hlavních stresových hormonů. HPA osa je dotvářena v časně fázi po narození a jak bylo zjištěno na její utváření a funkci v pozdějším životě má vliv i střevní mikrobiom (Sudo et al. 2004). Expozice stresorům má vliv na stabilitu mikrobioty a vede ke zvýšené permeabilitě střev a bakteriální translokaci (Varghese et al. 2006; Bailey et al. 2010). Vystavení sociálním, environmentálním či dietním

stresorům prokazatelně mění osídlení střev (Tannock and Savage 1974), snížilo například výskyt rodu *Bacteroides* a zvýšilo výskyt rodu *Clostridia* (Bailey et al. 2010).

Na vývoj HPA osy má také vliv mateřská péče. Mláďata potkanů, o která se matky více staraly těsně po narození, měla v dospělosti po vystavení stresu nižší plazmatické koncentrace ACTH a kortikosteronu (Liu et al. 1997).

4.1.1. Glukokortikoidy

Glukokortikoidy jsou steroidní hormony uvolňované v reakci na aktivaci HPA osy. Působení stresu stimuluje produkci kortikoliberinu (CRH, z angl. corticotropine releasing hormone) v hypotalamu, tento hormon pak v adenohipofýze stimuluje produkci adrenokortikotropního hormonu (ACTH, z angl. adrenocorticotropin hormone), který následně stimuluje uvolnění glukokortikoidů z kůry nadledvin. Sekrece ACTH je kromě CRH stimulována některými dalšími látkami jako jsou prozánětlivé cytokiny TNF- α , IL-1 nebo IL-6, které se mohou vyplavit třeba v případě působení patogenních bakterií ve střevech. Glukokortikoidy tlumí zánětlivou odpověď a stimulují tvorbu protizánětlivých cytokinů (Ünsal and Balkaya 2012). V případě déletrvajícího stresu mají škodlivé účinky, mohou například způsobovat zvýšenou permeabilitu střevního epitelu, to bylo prokázáno tím, že při provedení adrenaloktomie nebo zablokování glukokortikoidových receptorů zvýšená permeabilita střevního epitelu nenastala (Meddings and Swain 2000). Na složení střevní mikrobioty potomků má vliv i to, zda je matka ve stresu. Děti matek, které v těhotenství byly vystaveny častému stresu, měly jinou mikrobiotu, než děti matek, které v takovém stresu nebyly. Byl u nich zjištěn výskyt bakteriálních kmenů patogenních bakterií a nižší výskyt bakterií s probiotickým účinkem (Zijlmans et al. 2015).

4.1.2. Katecholaminy

V neuronech enterického nervového systému se nachází noradrenalin. Bakterie sice nemají adrenergní receptory, ale přesto reagují na noradrenalin a adrenalin. Pokud je u enterohemoragické *E.coli* zabráněno produkci bakteriálních signálních molekul Autoinducer 3 (AI 3) účastnících se quorum sensing (způsob komunikace bakterií), jejich funkci zastane adrenalin. AI 3 slouží u této patogenní *E. coli* k tomu aby poznala, jestli už je ve střevě a případně kolonizovala střevo a zahájila transkripci virulenčních faktorů. Signálem pro kolonizaci je při nepřítomnosti AI 3 právě adrenalin přítomný ve střevech (Sperandio et al.

2003). Přítomnost katecholaminů a Al^{3+} ve střevě je tedy možným prostředníkem komunikace mezi bakterií a hostitelem. Místem interakce je senzorická kináza QsecC, na níž reaguje regulátor QseB, který moduluje transkripci chemotaktických a flagelárních genů (Bearson and Bearson 2007). Stejný systém komunikace využívá více bakteriálních druhů, například *Salmonella typhimurium*, *V. harveyi*, *Vibrio cholerae* nebo *Enterococcus faecalis* (Schauder et al. 2001).

Katecholaminy mohou taky usnadňovat mezidruhový horizontální genový přenos (HGT) mezi střevními patogenními bakteriemi (Peterson et al. 2011), což umožňuje například předávání genů pro rezistenci proti lékům. Dalším efektem je podpora růstu bakterií, která byla prokázána *in vitro* (Belay and Sonnenfeld 2002).

5. Onemocnění související s interakcemi střevo-mozek

V nedávné době byly studovány vlivy střevní mikrobioty na řadu nemocí souvisejících s mozkem. Působení na střevní mikroflóru ať už ve formě probiotik nebo fekálních transplantací může mít pozitivní efekt například na jaterní encefalopatii. Interakce střevních bakterií i mozku se ukázala jako důležitá i v případě léčby obezity nebo anorexie.

5.1. Střevní záněty a funkční poruchy střev

Mezi nespecifické střevní záněty (IBD, z angl. inflammatory bowel disease) se řadí Crohnova choroba (CD, z angl. Crohn's disease) a ulcerózní kolitida (UC, z angl. ulcerative colitis). Ulcerózní kolitida je chronické zánětlivé onemocnění tlustého střeva, při kterém dochází k tvorbě vředů.

Tato onemocnění jsou ve velkém počtu případů asociována s psychiatrickými poruchami, jako jsou úzkost nebo deprese. V poslední době se objevilo několik studií dávajících chronická onemocnění střev do souvislosti se stresem mládeže v raném věku (Bailey and Coe 1999; O'Mahony et al. 2009; O'Malley et al. 2010).

Mikrobioty CD a UC pacientů a zdravých jedinců se výrazně liší, u pacientů s CD a UC byl zjištěn úbytek komenzálních bakterií především z kmenů *Firmicutes* a *Bacteroidetes* (Frank et al. 2007).

Dráždivý tračník (IBS, z angl. irritable bowel syndrome) je velmi časté onemocnění postihující střeva. Mezi symptomy objevující se u pacientů s IBS patří bolesti břicha, průjem, zácpa,

nepravidelné vyprazdňování a nadýmání (Salonen et al. 2010). U pacientů s IBS byly zdokumentovány změny ve složení střevní mikroflóry. Dochází u nich k úbytku *Bacteroidetes* a nárůstu *Firmicutes* (Rajilić-Stojanović et al. 2011). U pacientů s IBS také byly nalezeny změny v mozku, například zvýšené množství šedé hmoty v mozku, to naznačuje souvislost mezi IBS, stresem a HPA osou (Blankstein et al. 2010). Jak ukazují studie na laboratorních zvířatech probiotika mohou u pacientů se střevními záněty pomoci nejen ve střevech, ale mohou také způsobit zlepšení psychických symptomů jako je deprese nebo úzkost.

5.2. Psychiatrické poruchy, deprese, úzkost, poruchy autistického spektra

O vlivech působení probiotik na úzkost a depresi bylo již pojednáno v kapitole o působení probiotik. V poslední době hojně studovanou poruchou v souvislosti se střevní mikroflórou je autismus. Autismus je typický stereotypním opakováním určitých úkonů, změnami v sociálním chování a komunikaci, změnami ve vnímavosti k určitým podnětům a problémy s přijímáním změn (Finegold et al. 2002). U autistických jedinců byly zjištěny změny v kompozici střevní mikroflóry, často se u nich vyskytuje dysbióza a střevní potíže. Čím závažnější jsou symptomy autismu, tím závažnější mají děti gastrointestinální obtíže. Děti s autismem mají nižší hladiny SCFA. Mají také méně bakterií rodu *Bifidobacteria* a více bakterií rodu *Lactobacillus* (Adams et al. 2011). Finegold et al. (2002) uvádí změny v zastoupení rodu *Clostridium*. Zajímavé je také srovnání autistických dětí, jejich sourozenců a zdravých dětí (Finegold et al. 2010). Sourozenci autistických dětí mají mikroflóru spíše podobnou svým sourozencům s autismem než zdravým dětem. Mikroflóra autistických dětí je různorodější, je možné, že obsahuje více škodlivých bakterií. Tím je pravděpodobně možné vysvětlit to, že při léčbě určitými antibiotiky dojde ke zlepšení symptomů. Autoři vyzdvihují, že velká část bakterií kmene *Bacteroidetes* produkuje kyselinu propionovou, která u laboratorních zvířat působí symptomy autismu (MacFabe et al. 2006; Finegold et al. 2010). Není zatím jasné, zda autismus způsobuje změny ve střevní mikroflóře nebo nenormální osídlení střev přispívá k rozvoji autismu.

6. Závěr

Téma interakcí mezi střevní mikroflórou a mozkiem není zatím zkoumáno příliš dlouho, v dnešní době se však začíná těšit většímu zájmu jak odborné tak laické veřejnosti. V literatuře je sice popsáno poměrně velké množství preklinických studií na laboratorních zvířatech, ale nejsou zatím dobře popsány účinky probiotických bakterií u lidí. To je jeden ze směrů, kterým by se výzkum působení prospěšných probiotických bakterií mohl ubírat.

Bakterie jako prostředek k ovlivnění organismu mají mnoho výhod. Jsou snadno manipulovatelné a ovlivnitelné což z nich činí ideálního prostředníka pro terapii nemocí. Z popsaných experimentů je vidět, že pro zdraví člověka je kriticky důležité období dětství. Důležité je, aby došlo ke správnému osídlení střev bakteriemi v dětství. Předpokladem pro správné osídlení střev je vytvoření harmonického prostředí pro děti, kvalitní strava, dostatečně dlouhá doba kojení a laskavá péče rodičů. Pokud některý z těchto předpokladů správného vývoje není splněn, může to mít pro jedince škodlivé důsledky v dalším životě.

Zásadní problém související se zdravím západní populace je otázka životního stylu. Jak vyplývá z experimentů shrnutých v této práci, právě životní styl, stres a způsob stravování má na osídlení střev podstatný vliv. Změna životního stylu, která napomůže harmonizaci osídlení střev je krok, který může pro své zdraví udělat každý sám. V tom mohou pomoci i probiotické bakterie.

Je možné a doufám, pravděpodobné, že v budoucnu místo toho abychom léčili symptomy deprese a dalších onemocnění, které mohou mít příčinu právě v nesprávném osídlení střev, bude možné pomocí probiotik odstranit jejich příčinu.

7. Seznam zkratek

5-HT 5-Hydroxytryptamin, Serotonin

ACTH adrenokortikotropní hormon

AI 3 autoinducer 3

BDNF mozkový neurotrofní faktor

CD Crohnova choroba

CNS centrální nervový systém

CRH kortikoliberin

DNA deoxyribonukleová kyselina

ENS enterický nervový systém

GABA γ -aminomáselná kyselina

GF bezmikrobní

HGT horizontální genový přenos

HPA hypotalamo – hypofyzární osa

IBD nespecifické střevní záněty

IBS dráždivý tračník

IFN- γ interferon γ

IL interleukin

LPS lipopolysacharid

MAMPs

s mikroby asociované molekulární
vzorce

mRNA mediátorová RNA

NF- κ B nukleární faktor κ B

NMDA *N*-methyl-D-asparagová kyselina

NOS syntáza oxidu dusnatého

PAMPs patogeny asociované
molekulární vzorce

PCR polymerázová řetězová reakce

PRR pattern recognition receptors

PSD-95

QseB quorum sensing senzorická kináza

RNA ribonukleová kyselina

rRNA ribozomální RNA

rDNA ribozomální DNA

SPF střevní mikroflóra bez patogenů

TGF- β transformující růstový faktor

TLR toll-like receptor

TNF- α faktor nádorové nekrózy α

UC ulcerózní kolitida

8. Seznam použité literatury

Abreu M. 2010. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology* **10**: 131–144.

Adams JB, Johansen LJ, Powell LD, Quig D, Rubin RA. 2011. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC gastroenterology* **11**: 22.

Alesci S, Martinez P, Kelkar S, Ilias I, Ronsaville D, Listwak S, Ayala A, Licinio J, Gold H, Kling M, Chrousos G, Gold P. 2005. Major depression is associated with significant diurnal elevations in plasma interleukin-6 levels, a shift of its circadian rhythm, and loss of physiological complexity in its secretion: clinical implications. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* **90**: 2522–30.

Antonopoulos DA, Huse SM, Morrison HG, Schmidt TM, Sogin ML, Young VB. 2009. Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation. *Infection and immunity* **77**: 2367–75.

Anuar F, Al-Asmakh M, Miklos T, Kwak Y-K, Möllby R, Bakocevic N, Guan N, Hibberd M, Gulyas B, Halldin C, Volpe B, Diamond B, Pettersson S. 2012. The indigenous gut microbiota modulates the blood–brain barrier in mice. *International Journal of Developmental Neuroscience*.

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Paslier D, Yamada T, Mende D, Fernandes G, Tap J, Bruls T, Batto J-M, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen H, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal E, Wang J, Guarner F, Pedersen O, Vos W, Brunak S, Doré J, Consortium M, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere H, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Foerstner K, Friss C, Guchte M, Guedon E, Haimet F, Huber W, Hylckama-Vlieg J, Jamet A, Juste C, Kaci G, Knol J, Lakhdari O, Layec S, Roux K, Maguin E, Mérieux A, Minardi R, M'rini C, Muller J, Oozeer R, Parkhill J, Renault P, Rescigno M, Sanchez N, Sunagawa S, Torrejon A, Turner K, Vandemeulebrouck G, Varela E, Winogradsky Y, Zeller G, Weissenbach J, Ehrlich S, Bork P. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* **473**: 174–180.

Azad M, Konya T, Maughan H, Guttman D, Field C, Chari R, Sears M, Becker A, Scott J, Kozyrskyj A, Investigators C. 2013. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *Canadian Medical Association Journal* **185**: 385–394.

Bailey M, Coe C. 1999. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Developmental Psychobiology* **35**: 146–155.

Bailey M, Dowd S, Galley J, Hufnagle A, Allen R, Lyte M. 2010. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, Behavior, and Immunity* **25**: 397–407.

- Banks W. 2005.** Blood-Brain Barrier Transport of Cytokines: A Mechanism for Neuropathology. *Current Pharmaceutical Design* **11**: 973984.
- Banks W, Farr SA, Morley JE. 2003.** Entry of Blood-Borne Cytokines into the Central Nervous System: Effects on Cognitive Processes. *Neuroimmunomodulation* **10**: 319–327.
- Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C. 2012.** γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of Applied Microbiology* **113**: 411–7.
- Bearson B, Bearson S. 2007.** The role of the QseC quorum-sensing sensor kinase in colonization and norepinephrine-enhanced motility of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Microbial pathogenesis* **44**: 271–8.
- Belay T, Sonnenfeld G. 2002.** Differential effects of catecholamines on in vitro growth of pathogenic bacteria. *Life sciences* **71**: 447–56.
- Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, Deng Y, Blennerhassett P, Macri J, McCoy K, Verdu E, Collins S. 2011a.** The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology* **141**.
- Bercik P, Park A, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, Deng Y, Blennerhassett P, Fahnestock M, Moine D, Berger B, Huizinga J, Kunze W, McLean P, Bergonzelli G, Collins S, Verdu E. 2011b.** The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut–brain communication. *Neurogastroenterology & Motility* **23**: 1132–1139.
- Bercik P, Verdu E, Foster J, Macri J, Potter M, Huang X, Malinowski P, Jackson W, Blennerhassett P, Neufeld K, Lu J, Khan W, Cortesy–Theulaz I, Cherbut C, Bergonzelli G, Collins S. 2010.** Chronic Gastrointestinal Inflammation Induces Anxiety-Like Behavior and Alters Central Nervous System Biochemistry in Mice. *Gastroenterology* **139**.
- Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling G. 2011.** Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* **17**: 478–82.
- Bienenstock J, Forsythe P, Karimi K, Kunze W. 2010.** Neuroimmune aspects of food intake. *International Dairy Journal* **20**: 253258.
- Blankstein U, Chen J, Diamant N, Davis K. 2010.** Altered Brain Structure in Irritable Bowel Syndrome: Potential Contributions of Pre-Existing and Disease-Driven Factors. *Gastroenterology* **138**: 17831789.
- Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, Korecka A, Bakocevic N, Ng L, Guan N, Kundu P, Gulyás B, Halldin C, Hultenby K, Nilsson H, Hebert H, Volpe B, Diamond B, Pettersson S. 2014.** The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Science Translational Medicine* **6**: 263ra158–263ra158.

- Bravo J, Forsythe P, Chew M, Escaravage E, Savignac H, Dinan T, Bienenstock J, Cryan J. 2011.** Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 16050–16055.
- Campbell I, Abraham C, Masliah E, Kemper P, Inglis J, Oldstone M, Mucke L. 1993.** Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **90**: 10061–10065.
- Canani R, Costanzo M, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. 2011.** Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World journal of gastroenterology : WJG* **17**: 1519–28.
- Cavaillon JM. 2001.** Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)* **47**: 695–702.
- Chen D, Yang Z, Chen X, Huang Y, Yin B, Guo F, Zhao H, Zhao T, Qu H, Huang J, Wu Y, Gu R. 2014.** The effect of Lactobacillus rhamnosus hsrlym 1301 on the intestinal microbiota of a hyperlipidemic rat model. *BMC complementary and alternative medicine* **14**: 386.
- Del Chierico F, Petrucca A, Mortera SL, Vernocchi P, Rosado MM, Pieroni L, Carsetti R, Urbani A, Putignani L. 2014.** A metaproteomic pipeline to identify newborn mouse gut phylotypes. *Journal of proteomics* **97**: 17–26.
- Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney R, Shanahan F, Dinan T, Cryan J. 2012.** The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular Psychiatry* **18**: 666–673.
- Collins S, Surette M, Bercik P. 2012.** The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology* **10**: 735–742.
- Davey KJ, Cotter PD, O’Sullivan O, Crispie F, Dinan TG, Cryan JF, O’Mahony SM. 2013.** Antipsychotics and the gut microbiome: olanzapine-induced metabolic dysfunction is attenuated by antibiotic administration in the rat. *Translational psychiatry* **3**: e309.
- Demady DR, Jianmongkol S, Vuletich JL, Bender AT, Osawa Y. 2001.** Agmatine enhances the NADPH oxidase activity of neuronal NO synthase and leads to oxidative inactivation of the enzyme. *Molecular pharmacology* **59**: 24–9.
- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan T. 2008.** The probiotic Bifidobacteria infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of psychiatric research* **43**: 164–74.
- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan J, Dinan T. 2010.** Effects of the probiotic Bifidobacterium infantis in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* **170**: 1179–1188.

Dinan TG, Quigley EM. 2011. Probiotics in the treatment of depression: science or science fiction? *The Australian and New Zealand journal of psychiatry* **45**: 1023–5.

Diop L, Guillou S, Durand H. 2008. Probiotic food supplement reduces stress-induced gastrointestinal symptoms in volunteers: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Nutrition Research* **28**: 15.

Endo A, Pärty A, Kalliomäki M, Isolauri E, Salminen S. 2014. Long-term monitoring of the human intestinal microbiota from the 2nd week to 13 years of age. *Anaerobe* **28**: 149156.

Fan W, Tang Y, Qu Y, Cao F, Huo G. 2014. Infant formula supplemented with low protein and high carbohydrate alters the intestinal microbiota in neonatal SD rats. *BMC microbiology* **14**: 279.

Filippo C, Cavalieri D, Paola M, Ramazzotti M, Poullet J, Massart S, Collini S, Pieraccini G, Lionetti P. 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**: 14691–14696.

Finegold S, Dowd S, Gontcharova V, Liu C, Henley K, Wolcott R, Youn E, Summanen P, Granpeesheh D, Dixon D, Liu M, Molitoris D, Green J. 2010. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* **16**: 444–53.

Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen M-LL, Bolte E, McTeague M, Sandler R, Wexler H, Marlowe EM, Collins MD, Lawson PA, Summanen P, Baysallar M, Tomzynski TJ, Read E, Johnson E, Rolfe R, Nasir P, Shah H, Haake DA, Manning P, Kaul A. 2002. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **35**: S6–S16.

Frank D, Amand A, Feldman R, Boedeker E, Harpaz N, Pace N. 2007. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**: 13780–13785.

Ganong W. 2000. Circumventricular Organs: Definition And Role In The Regulation Of Endocrine And Autonomic Function. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **27**: 422–427.

Gareau M, Wine E, Rodrigues D, Cho J, Whary M, Philpott D, MacQueen G, Sherman P. 2011. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut* **60**: 307–317.

Genedani S, Piccinini G, Bertolini A. 1984. Putrescine has analgesic activity in rats. *Life Sciences* **34**: 2407–2412.

Ghia J-E, Blennerhassett P, Collins S. 2008. Impaired parasympathetic function increases susceptibility to inflammatory bowel disease in a mouse model of depression. *Journal of Clinical Investigation*.

- Ghia J-E, Blennerhassett P, El-Sharkawy R, Collins S. 2007.** The protective effect of the vagus nerve in a murine model of chronic relapsing colitis. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* **293**: G711–G718.
- Ghia J, Blennerhassett P, Kumar-Ondiveeran H, Verdu E, Collins S. 2006.** The vagus nerve: a tonic inhibitory influence associated with inflammatory bowel disease in a murine model. *Gastroenterology* **131**: 1122–30.
- Goehler L, Gaykema R, Opitz N, Reddaway R, Badr N, Lyte M. 2005.** Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: Early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain, Behavior, and Immunity* **19**: 334–344.
- Haenisch B, Kügelgen I, Bönisch H, Göthert M, Sauerbruch T, Schepke M, Marklein G, Höfling K, Schröder D, Molderings G. 2008.** Regulatory mechanisms underlying agmatine homeostasis in humans. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology* **295**: G1104–10.
- Hart A, Lammers K, Brigidi P, Vitali B, Rizzello F, Gionchetti P, Campieri M, Kamm M, Knight S, Stagg A. 2004.** Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut* **53**: 1602–1609.
- Hayes D, Jupp B, Sawiak S, Merlo E, Caprioli D, Dalley J. 2014.** Brain γ -aminobutyric acid: a neglected role in impulsivity. *European Journal of Neuroscience* **39**: 1921–1932.
- Heijtz R, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A, Hibberd M, Forssberg H, Pettersson S. 2011.** Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 3047–3052.
- Heyes M, Saito K, Crowley J, Davis L, Demitrack M, Der M, Dilling L, Elia J, Kruesi M, Lackner A, Larsen S, Lee K, Leonard H, Markey S, Martin A, Milstein S, Mouradian M, Pranzatelli M, Quearry B, Salazar A, Smith M, Strauss S, Sunderland T, Swedo S, Tourtellotte W. 1992.** Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain : a journal of neurology* **115 (Pt 5)**: 1249–73.
- Higuchi T, Hayashi H, Abe K. 1997.** Exchange of glutamate and gamma-aminobutyrate in a *Lactobacillus* strain. *Journal of bacteriology* **179**: 3362–4.
- Hirst GD, Holman ME, Spence I. 1974.** Two types of neurones in the myenteric plexus of duodenum in the guinea-pig. *The Journal of physiology* **236**: 303–26.
- Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, Björkstén B, Engstrand L, Andersson AF. 2014.** Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut* **63**: 559–66.
- Jones M, Dilley J, Drossman D, Crowell M. 2006.** Brain–gut connections in functional GI disorders: anatomic and physiologic relationships. *Neurogastroenterology & Motility* **18**: 91–103.

Kakizaki Y, Watanobe H, Kohsaka A, Suda T. 2006. Temporal Profiles of Interleukin-1 β , Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor- α in the Plasma and Hypothalamic Paraventricular Nucleus after Intravenous or Intraperitoneal Administration of Lipopolysaccharide in the Rat. *Endocrine Journal* **46**: 487–496.

Khoshdel A, Verdu E, Kunze W, McLean P, Bergonzelli G, Huizinga J. 2013. Bifidobacterium longum NCC3001 inhibits AH neuron excitability. *Neurogastroenterology & Motility* **25**: e478–e484.

Kimura I, Inoue D, Maeda T, Hara T, Ichimura A, Miyauchi S, Kobayashi M, Hirasawa A, Tsujimoto G. 2011. Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 8030–8035.

Koenig J, Spor A, Scalfone N, Fricker A, Stombaugh J, Knight R, Angenent L, Ley R. 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**: 4578–4585.

Kunze W, Mao Y, Wang B, Huizinga J, Ma X, Forsythe P, Bienenstock J. 2009. Lactobacillus reuteri enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **13**: 2261–2270.

Lecomte V, Kaakoush NO, Maloney CA, Raipuria M, Huinao KD, Mitchell HM, Morris MJ. 2015. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters. *PloS one* **10**: e0126931.

Lee W, Hong S, Yoon S, Kim J, Park K, Seong G, Lee J. 2009. Neuroprotective effects of agmatine on oxygen-glucose deprived primary-cultured astrocytes and nuclear translocation of nuclear factor-kappa B. *Brain research* **1281**: 64–70.

Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. 2005. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 11070–5.

Ley R, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh P, Ramey R, Bircher J, Schlegel M, Tucker T, Schrenzel M, Knight R, Gordon J. 2008. Evolution of Mammals and Their Gut Microbes. *Science* **320**: 1647–1651.

Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. 1994. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science (New York, N.Y.)* **263**: 966–9.

Li K, Xu E. 2008. The role and the mechanism of gamma-aminobutyric acid during central nervous system development. *Neuroscience bulletin* **24**: 195–200.

Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ. 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science (New York, N.Y.)* **277**: 1659–62.

Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. 2004. Live *Lactobacillus rhamnosus* [corrected] is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. *Infection and immunity* **72**: 5308–14.

MacFabe D, Cain N, Boon F, Ossenkopp K-P, Cain D. 2011. Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorder. *Behavioural Brain Research* **217**: 4754.

MacFabe D, Cain D, Rodriguez-Capote K, Franklin A, Hoffman J, Boon F, Taylor A, Kavaliers M, Ossenkopp K-P. 2006. Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: possible role of short chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behavioural brain research* **176**: 149–69.

Mao Y, Wang B, Kunze W. 2006. Characterization of myenteric sensory neurons in the mouse small intestine. *Journal of neurophysiology* **96**: 998–1010.

McCusker RH, Kelley KW. 2013. Immune-neural connections: how the immune system's response to infectious agents influences behavior. *The Journal of experimental biology* **216**: 84–98.

McNulty N, Yatsunenko T, Hsiao A, Faith J, Muegge B, Goodman A, Henrissat B, Oozeer R, Cools-Portier S, Gobert G, Chervaux C, Knights D, Lozupone C, Knight R, Duncan A, Bain J, Muehlbauer M, Newgard C, Heath A, Gordon J. 2011. The Impact of a Consortium of Fermented Milk Strains on the Gut Microbiome of Gnotobiotic Mice and Monozygotic Twins. *Science Translational Medicine* **3**: 106ra106106ra106.

Meddings J, Swain M. 2000. Environmental stress-induced gastrointestinal permeability is mediated by endogenous glucocorticoids in the rat. *Gastroenterology* **119**: 10191028.

Menachem-Zidon O, Goshen I, Kreisel T, Menahem Y, Reinhartz E, Hur T, Yirmiya R. 2007. Intrahippocampal Transplantation of Transgenic Neural Precursor Cells Overexpressing Interleukin-1 Receptor Antagonist Blocks Chronic Isolation-Induced Impairment in Memory and Neurogenesis. *Neuropsychopharmacology* **33**: 2251–2262.

Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejdi A, Bisson J-F, Rougeot C, Pichelin M, Cazaubiel M, Cazaubiel J-M. 2010. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *The British journal of nutrition*.

Meyer TA, Wang JJ, Tiao GM, Ogle CK, Fischer JE, Hasselgren PO. 1997. Sepsis and endotoxaemia in mice stimulate the expression of interleukin-1 and interleukin-6 in the central nervous system. *Clinical science (London, England : 1979)* **92**: 519–25.

Mirpuri J, Raetz M, Sturge CR, Wilhelm CL, Benson A, Savani RC, Hooper LV, Yarovinsky F. 2014. Proteobacteria-specific IgA regulates maturation of the intestinal microbiota. *Gut microbes* **5**: 28–39.

- Molderings G, Heinen A, Menzel S, Lübbecke F, Homann J, Göthert M. 2003.** Gastrointestinal Uptake of Agmatine: Distribution in Tissues and Organs and Pathophysiologic Relevance. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1009**: 44–51.
- Moschen I, Bröer A, Galić S, Lang F, Bröer S. 2012.** Significance of Short Chain Fatty Acid Transport by Members of the Monocarboxylate Transporter Family (MCT). *Neurochemical Research* **37**: 2562–2568.
- Nguyen TL, Vieira-Silva S, Liston A, Raes J. 2015.** How informative is the mouse for human gut microbiota research? *Disease models & mechanisms* **8**: 1–16.
- Osburg B, Peiser C, Dömling D, Schomburg L, Ko YT, Voigt K, Bickel U. 2002.** Effect of endotoxin on expression of TNF receptors and transport of TNF-alpha at the blood-brain barrier of the rat. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* **283**: E899–908.
- O'Mahony S, Clarke G, Borre Y, Dinan T, Cryan J. 2015.** Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research* **277**: 3248.
- O'Mahony S, Marchesi J, Scully P, Codling C, Ceolho A-M, Quigley E, Cryan J, Dinan T. 2009.** Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biological psychiatry* **65**: 263–7.
- O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, O'Sullivan G, Kiely B, Collins J, Shanahan F, Quigley E. 2005.** Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* **128**: 541–51.
- O'Malley D, Dinan T, Cryan J. 2010.** Neonatal maternal separation in the rat impacts on the stress responsivity of central corticotropin-releasing factor receptors in adulthood. *Psychopharmacology* **214**: 221–229.
- Pan W, Kastin A. 2002.** TNFalpha transport across the blood-brain barrier is abolished in receptor knockout mice. *Experimental neurology* **174**: 193–200.
- Peterson G, Kumar A, Gart E, Narayanan S. 2011.** Catecholamines increase conjugative gene transfer between enteric bacteria. *Microbial pathogenesis* **51**: 1–8.
- Pierre K, Pellerin L. 2005.** Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *Journal of Neurochemistry* **94**: 1–14.
- Piletz J, May P, Wang G, Zhu H. 2003.** Agmatine Crosses the Blood-Brain Barrier. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1009**: 64–74.

Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf K, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende D, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto J-M, Hansen T, Paslier D, Linneberg A, Nielsen B, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Antolin M, Artiguenave F, Blottiere H, Borruel N, Bruls T, Casellas F, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Forte M, Friss C, van de Guchte M, Guedon E, Haimet F, Jamet A, Juste C, Kaci G, Kleerebezem M, Knol J, Kristensen M, Layec S, Roux K, Leclerc M, Maguin E, Minardi R, Oozeer R, Rescigno M, Sanchez N, Tims S, Torrejon T, Varela E, de Vos W, Winogradsky Y, Zoetendal E, Bork P, Ehrlich D, Wang J. 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* **464**: 59–65.

Quagliarello VJ, Wispelwey B, Long WJ, Scheld WM. 1991. Recombinant human interleukin-1 induces meningitis and blood-brain barrier injury in the rat. Characterization and comparison with tumor necrosis factor. *The Journal of clinical investigation* **87**: 1360–6.

Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. 1995. Agmatine, the bacterial amine, is widely distributed in mammalian tissues. *Life sciences* **56**: 2319–30.

Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig H, Kajander K, Kekkonen R, Tims S, Vos W. 2011. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* **141**: 1792–801.

Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. 2004. Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell* **118**.

Rao A, Bested A, Beaulne T, Katzman M, Iorio C, Berardi J, Logan A. 2009. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens* **1**: 6.

Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. 2009. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* **6**: 306–14.

Riedel C-UU, Foata F, Philippe D, Adolfsson O, Eikmanns B-JJ, Blum S. 2006. Anti-inflammatory effects of bifidobacteria by inhibition of LPS-induced NF-kappaB activation. *World journal of gastroenterology : WJG* **12**: 3729–35.

Al-Sadi R, Guo S, Dokladny K, Smith M, Ye D, Kaza A, Watterson D, Ma T. 2012. Mechanism of Interleukin-1 β Induced-Increase in Mouse Intestinal Permeability In Vivo. *Journal of Interferon & Cytokine Research* **32**: 474484.

Salonen A, Vos W, Palva A. 2010. Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives. *Microbiology (Reading, England)* **156**: 3205–15.

Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, Plotsky P, Vale W. 1987. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science (New York, N.Y.)* **238**: 522–4.

- Savignac H, Kiely B, Dinan T, Cryan J. 2014.** Bifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. *Neurogastroenterology & Motility* **26**: 1615–1627.
- Savignac, Tramullas, Kiely, Dinan, Cryan. 2015.** Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain. *Behavioural Brain Research* **287**: 5972.
- Savitz J, Drevets W, Wurfel B, Ford B, Bellgowan P, Victor T, Bodurka J, Teague T, Dantzer R. 2015.** Reduction of kynurenic acid to quinolinic acid ratio in both the depressed and remitted phases of major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity* **46**: 5559.
- Schauder S, Shokat K, Surette M, Bassler B. 2001.** The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Molecular Microbiology* **41**: 463–476.
- Schemann M, Neunlist M. 2004.** The human enteric nervous system. *Neurogastroenterology & Motility* **16**: 55–59.
- Schloss P, Schubert A, Zackular J, Iverson K, Young V, Petrosino J. 2012.** Stabilization of the murine gut microbiome following weaning. *Gut Microbes* **3**.
- Schroeder F, Lin C, Crusio W, Akbarian S. 2007.** Antidepressant-Like Effects of the Histone Deacetylase Inhibitor, Sodium Butyrate, in the Mouse. *Biological Psychiatry* **62**: 5564.
- Sekirov I, Tam N, Jogova M, Robertson M, Li Y, Lupp C, Finlay B. 2008.** Antibiotic-Induced Perturbations of the Intestinal Microbiota Alter Host Susceptibility to Enteric Infection. *Infection and Immunity* **76**: 4726–4736.
- Sezer A, Guclu B, Kazanci B, Cakir M, Coban M. 2013.** Neuroprotective effects of agmatine in experimental peripheral nerve injury in rats: a prospective randomized and placebo-controlled trial. *Turkish Neurosurgery*.
- Shishov V, Kirovskaya T, Kudrin V, Oleskin A. 2009.** Amine neuromediators, their precursors, and oxidation products in the culture of Escherichia coli K-12. *Applied Biochemistry and Microbiology* **45**: 494497.
- Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK, Bäckhed F, Ohlsson C. 2012.** The gut microbiota regulates bone mass in mice. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **27**: 1357–67.
- Soret R, Chevalier J, Coppet P, Poupeau G, Derkinderen P, Segain J, Neunlist M. 2010.** Short-Chain Fatty Acids Regulate the Enteric Neurons and Control Gastrointestinal Motility in Rats. *Gastroenterology* **138**.
- Sperandio V, Torres A, Jarvis B, Nataro J, Kaper J. 2003.** Bacteria–host communication: The language of hormones. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **100**: 8951–8956.

- Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X-NN, Kubo C, Koga Y. 2004.** Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of physiology* **558**: 263–75.
- Taksande B, Kotagale N, Patel M, Shelkar G, Ugale R, Chopde C. 2010.** Agmatine, an endogenous imidazoline receptor ligand modulates ethanol anxiolysis and withdrawal anxiety in rats. *European Journal of Pharmacology* **637**: 89101.
- Tana C, Umesaki Y, Imaoka A, Handa T, Kanazawa M, Fukudo S. 2010.** Altered profiles of intestinal microbiota and organic acids may be the origin of symptoms in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* **22**: 512–9, e114–5.
- Tannock GW, Savage DC. 1974.** Influences of dietary and environmental stress on microbial populations in the murine gastrointestinal tract. *Infection and immunity* **9**: 591–8.
- Thomas R, Meeking M, Mepham J, Tichenoff L, Possmayer F, Liu S, MacFabe D. 2012.** The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation* **9**: 153.
- Tillisch K, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, Guyonnet D, Legrain–Raspaud S, Trotin B, Naliboff B, Mayer E. 2013.** Consumption of Fermented Milk Product With Probiotic Modulates Brain Activity. *Gastroenterology* **144**.
- Tsavkelova E, Klimova S, Cherdyntseva T, Netrusov A. 2006.** Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review. *Applied Biochemistry and Microbiology* **42**: 229235.
- Ünsal H, Balkaya M. 2012.** Glucocorticoids - New Recognition of Our Familiar Friend: Glucocorticoids and the Intestinal Environment. 107–150.
- Varghese A, Verdú E, Bercik P, Khan W, Blennerhassett P, Szechtman H, Collins S. 2006.** Antidepressants attenuate increased susceptibility to colitis in a murine model of depression. *Gastroenterology* **130**: 1743–53.
- Velazquez FN, Prucca CGG, Etienne O, D’Astolfo DS, Silvestre DC, Boussin FDD, Caputto BL. 2015.** Brain development is impaired in c-fos $-/-$ mice. *Oncotarget*.
- Verstrepen L, Bekaert T, Chau T-L, Tavernier J, Chariot A, Beyaert R. 2008.** TLR-4, IL-1R and TNF-R signaling to NF- κ B: variations on a common theme. *Cellular and Molecular Life Sciences* **65**: 2964–2978.
- Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. 2005.** Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *The American journal of pathology* **166**: 409–19.

Wei Y, Melas P, Wegener G, Mathé A, Lavebratt C. 2014. Antidepressant-like effect of sodium butyrate is associated with an increase in TET1 and in 5-hydroxymethylation levels in the Bdnf gene. *International Journal of Neuropsychopharmacology*: pyu032.

Williams B, Benschoten A, Cimermanic P, Donia M, Zimmermann M, Taketani M, Ishihara A, Kashyap P, Fraser J, Fischbach M. 2014. Discovery and Characterization of Gut Microbiota Decarboxylases that Can Produce the Neurotransmitter Tryptamine. *Cell Host & Microbe*.

Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. 2011. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* **334**: 101–105.

Yamawaki Y, Fuchikami M, Morinobu S, Segawa M, Matsumoto T, Yamawaki S. 2011. Antidepressant-like effect of sodium butyrate (HDAC inhibitor) and its molecular mechanism of action in the rat hippocampus. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry* **13**: 458–67.

Yang XC, Reis DJ. 1999. Agmatine selectively blocks the N-methyl-D-aspartate subclass of glutamate receptor channels in rat hippocampal neurons. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **288**: 544–9.

Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, Nagler CR, Ismagilov RF, Mazmanian SK, Hsiao EY. 2015. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* **161**: 264–76.

Yarlagadda A, Alfson E, Clayton AH. 2009. The blood brain barrier and the role of cytokines in neuropsychiatry. *Psychiatry (Edmont)* **6**: 18–22.

Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuczynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* **486**: 222–7.

Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang P-C, Ngan B-Y, McKay D, Soderholm J, Perdue M, Sherman P. 2006. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* **55**: 1553–1560.

Zijlmans M, Korpela K, Riksen-Walraven J, Vos W, Weerth C. 2015. Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota. *Psychoneuroendocrinology* **53**: 233245.

Zomkowski AD, Hammes L, Lin J, Calixto JBB, Santos AR, Rodrigues AL. 2002. Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in mice. *Neuroreport* **13**: 387–91.

Zomkowski ADE, Santos ARS, Rodrigues ALS. 2006. Putrescine produces antidepressant-like effects in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **30**: 1419–1425.

Özogul F, Kuley E, Özogul Y, Özogul İ. 2013. The Function of Lactic Acid Bacteria on Biogenic Amines Production by Food-Borne Pathogens in Arginine Decarboxylase Broth. *Food Science and Technology Research* **18**: 795–804.